



Miljø- og
Ligestillingsministeriet
Miljøstyrelsen

TriFluPest

Trifluoreddikesyre (TFA) fra pesticider

Bekæmpelsesmiddel-
forskning nr. 230

December 2024

Udgiver: Miljøstyrelsen

Redaktion: Anders R. Johnsen, GEUS

Tekst:

Anders R. Johnsen, Trine Henriksen og Christian N. Albers, De Nationale Geologiske Undersøgelser for Danmark og Grønland (GEUS)

ISBN: 978-87-7038-688-3

Miljøstyrelsen offentliggør rapporter og indlæg vedrørende forsknings- og udviklingsprojekter inden for miljøsektoren, som er finansieret af Miljøstyrelsen. Det skal bemærkes, at en sådan offentliggørelse ikke nødvendigvis betyder, at det pågældende indlæg giver udtryk for Miljøstyrelsens synspunkter. Offentliggørelsen betyder imidlertid, at Miljøstyrelsen finder, at indholdet udgør et væsentligt indlæg i debatten omkring den danske miljøpolitik.

Må citeres med kildeangivelse.

Indhold

Forord	5
Sammenfatning	6
Summary	8
1. Introduktion	10
1.1 Grundvandets TFA-indhold	10
1.2 Pesticider som er testet for omdannelse til TFA	12
1.2.1 Omdannelse til TFA i jord	12
1.2.2 Omdannelse til TFA i metabolismestudier	13
1.3 C-CF ₃ -aromater kan have to typer nedbrydningsveje hvor kun den ene giver TFA	15
1.4 Forskningsspørgsmål og forsøg	16
2. Identificering af C-CF₃ pesticider, solgte mængder og projektets modelstoffer	17
2.1 Identificering af pesticidstoffer med C-CF ₃ struktur som har været solgt i Danmark	17
2.2 Projektets modelstoffer	20
3. Laboratorieforsøg 1: Screening af jorde for potentiel dannelse af TFA	22
4. Laboratorieforsøg 2: Kvantitativ bestemmelse af TFA-dannelse i jord	24
5. Overslag over udvaskning af TFA fra C-CF₃-pesticider	32
5.1.1 Fluopyram	34
5.1.2 Fluazinam	35
5.1.3 Diflufenican	36
5.1.4 Fluazifop-P-butyl	36
5.1.5 Trifluralin	37
5.1.6 Mefentrifluconazol	37
5.1.7 tau-Fluvalinat	38
6. Samlet diskussion	39
6.1 Konklusion	41
7. Udvikling og validering af kemiske metoder til kvantificering af TFA og moderstoffer	43
7.1 Metodeudvikling til analyse af trifluoreddikesyre med UPLC-MS/MS	43
7.1.1 Analysemetode 1: Trifluoreddikesyre (TFA)	43
7.1.2 Metodeudvikling: Valg af kolonne	44
7.1.3 Metodeudvikling: Mobilfase, flow, gradient og kolonnetemperatur	44
7.1.4 Metodeudvikling: Test af TFA-afsmitning fra udstyr og materialer	46
7.1.5 Metodeudvikling: Test og validering af metodens linearitet, præcision og nøjagtighed	47

7.2	Metodeudvikling til analyse af TFA's moderstoffer med UPLC-MS/MS	47
7.2.1	Analysemetode 2: Moderstoffer	47
7.2.2	Metodeudvikling: Kolonne, mobilfase, flow, gradient og kolonnetemperatur	48
7.2.3	Metodeudvikling: Ekstraktion af moderstoffer fra jord	49
7.2.4	Metodeudvikling: Test og validering af metodens linearitet, præcision og nøjagtighed	50
8.	Materialer og metoder anvendt i projektets laboratorieforsøg	51
8.1	Forsøg 1: Kort-tids screening af jorde for omdannelse af pesticider til TFA i jordslurry	51
8.1.1	Formål	51
8.1.2	Fremgangsmåde	52
8.2	Forsøg 2, hovedforsøg: Omdannelse af pesticider til TFA i landbrugsjord.	53
8.2.1	Formål	53
8.2.2	Fremgangsmåde	54
8.2.3	Test af TFA-indhold i moderstofferne	55
9.	Referencer	56
Bilag 1	Regneeksempler	

Forord

Projektet "TriFluPest – Trifluoreddikesyre (TFA) fra pesticider" er finansieret af Miljøstyrelsens Program for Bekæmpelsesmiddelforskning (J. nr. 2021 - 68633). Projektet er gennemført ved De Nationale Geologiske Undersøgelser for Danmark og Grønland (GEUS), Geokemisk Afdeling fra september 2022 til august 2024.

Tak til Ulla E. Bollmann (GEUS) for sparring i løbet af projektet. Tak til BASF, BAYER og den tyske TFA-arbejdsgruppe/Dansk Planteværn for information om TFA-dannelse i industriens jordforsøg.

Projektet har været fulgt og kommenteret af en følgegruppe under Miljøstyrelsens Program for Bekæmpelsesmiddelforskning. Følgende medlemmer af følgegruppen har læst og kommenteret rapporten: Signe Bonde Rasmussen (Miljøstyrelsen, Pesticider), Bolette Palle Neve (technical adviser, Dansk Planteværn), Christian Deibjerg Hansen (head of registration, BASF A/S) og Sara Albiero Guldborg (politisk konsulent, Landbrug og Fødevarer).

Sammenfatning

Indledning. Denne rapport undersøger, i hvilket omfang trifluor-pesticider (C-CF₃ pesticider) kan omdannes til trifluoreddikesyre (TFA) i landbrugsjord. Der er foreslået to overordnede nedbrydningsveje for C-CF₃ pesticider. I den ene hydroxyleres molekylet af mikrobielle dioxygenaser, hvorefter der sker en frigivelse af fluorid, man kan derfor i princippet forestille sig, at C-CF₃ pesticiderne defluorerer fuldstændig uden dannelse af TFA, som tidligere vist for det simple stof benzotrifluorid. Men C-CF₃ pesticiderne er komplekse molekyler med substituenter og store reaktive sidegrupper, der kan reagere i stedet for CF₃-gruppen. Man kan derfor også forestille sig en anden nedbrydningsvej, hvor pesticid-molekylet gradvis nedbrydes, indtil der kun er TFA tilbage som den sidste persistente rest. Ved projektets start var kun flufenacet og flurtamon generelt erkendt som pesticidkilder til TFA, disse pesticider har ikke været tilladte i Danmark. Med to typer konkurrerende reaktionsveje var projektets to centrale forsknings spørgsmål derfor: 1) Kan C-CF₃-pesticider anvendt i Danmark nedbrydes til TFA i landbrugsjord? 2) Hvis ja, er de dannede TFA-mængder så tilstrækkelige til at påvirke grundvandskvaliteten under marker, som er sprøjtet med C-CF₃ pesticider?

Laboratorieforsøg. I laboratorieforsøg målte vi C-CF₃ pesticiders nedbrydning til TFA i jordprøver. Vi valgte syv C-CF₃-pesticid aktivstoffer, som i Danmark har høje årlige salgsmængder og som både repræsenterer stoffer med stort historisk salg og stoffer med stort nutidigt salg. Test-stofferne var: trifluralin, fluazifop-P-butyl, fluazinam, tau-fluvalinat, diflufenican, fluopyram og mefentrifluconazol. Laboratorieforsøget bestod af mikrokosmosforsøg med omdannelse under semi-realistiske betingelser i tre landbrugsjorde (Sv1, Sv3 og Sv6) over 52 uger. Alle syv testede C-CF₃ pesticider kunne omdannes til TFA, men TFA-dannelsen varierede både fra stof til stof og fra jord til jord. Fluopyram havde den største TFA-dannelse på 10,7%±0,4% af den tilsatte mængde i Sv6-jorden, men mindre dannelse i Sv1 (7,9%±0,3%) og betydeligt mindre dannelse i Sv3 (3,3%±0,2%). Fluazinam havde også stor TFA-dannelse (5,3% - 6,5%), men i modsætning til fluopyram var der kun beskedne forskelle mellem jordene. TFA-dannelsen var lavere for de øvrige stoffer med 2,4%-5,2% for diflufenican, 3,0%-5,3% for fluazifop-P-butyl, 1,1%-2,2% for trifluralin, 0,8%-3,3% for mefentrifluconazol og 0,4%-1,1% for tau-fluvalinat. Potentialet for TFA-dannelsen undervurderes dog, når man sætter TFA koncentrationen i forhold til den tilsatte moderstofkoncentration, hvis en stor del af moderstoffet er tilbage ved forsøgets afslutning. Dette var tilfældet for mefentrifluconazol, fluopyram og diflufenican, hvor henholdsvis 80%-87%, 61%-75% og 26-38% af moderstoffet var tilbage efter 52 ugers inkubation. Fluazinam og fluazifop-P-butyl/fluazifop var stort set forsvundet efter 52 uger. Med den udviklede analysemetode, var det ikke teknisk muligt at måle restniveauer af tau-fluvalinat og trifluralin.

Overslag over udvaskning fra sprøjtede marker. TFA-dannelsen blev brugt til at beregne overslag over mulig udvaskning af TFA fra pløjelaget på sprøjtede marker i løbet af ét år efter sprøjtningen. Estimerne for de årlige TFA middelmålinger i vandet, der forlader pløjelaget, varierede for forskellige afgrøder og sprøjtning i forskellige vækststadier. Mefentrifluconazol og tau-fluvalinat gav lave estimater, langt under pesticidstoffernes generelle kravværdi på 0,1 µg/L for drikkevand og grundvand, sandsynligvis fordi disse stoffer binder kraftigt til jordens organiske stof og derfor omdannes langsomt. Diflufenican gav estimater på 0,05-0,12 µg/L. Fluopyram, fluazinam, fluazifop-P-butyl og trifluralin gav alle høje estimater >0,1 µg/L for mange scenarier. De høje estimater skyldes grundlæggende TFA's høje persistens, en egenskab som afviger fra de fleste andre pesticidnedbrydningsprodukter, der i større eller mindre grad nedbrydes inden de forlader pløjelaget. Estimerne er behæftet med store usikkerheder, hvor de vigtigste er: 1) At nedbrydningsforsøg i små jordprøver i laboratoriet over 52 uger ikke svarer til in-situ betingelserne i marken. 2) At der vil være omdannelse af C-CF₃ pesticiderne

og deres C-CF₃ metabolitter til TFA udover nedbrydningsforsøgets varighed på 52 uger, dvs. at gentagen, årlig sprøjtning vil kunne give højere TFA middelmålinger end anslået. 3) At estimerne er beregnet ud fra den andel af pesticidstoffer, der afsættes direkte på jorden ved sprøjtning og som kan udgøre ned til 10% af den udsprøjtede mængde. Hvis pesticidet eller omdannelsesprodukter på afgrøden alligevel ender i jorden pga. regn eller formludning af plantedele, vil det i nogle tilfælde kunne øge TFA-koncentrationen betragteligt. Det skal bemærkes, at de estimerede middelmålinger i alle tilfælde er langt under drikkevandsbekendtgørelsens sundhedsbaserede kvalitetskrav på 9 µg/l.

Konklusion: Samtlige syv testede C-CF₃ pesticider kan omdannes til TFA i jord, men dannelsesraterne varierer meget fra stof til stof og fra jord til jord. Omdannelsen til TFA vil sandsynligvis fortsætte i mere end ét år efter sprøjtning. Overslagsberegninger for den årlige TFA-koncentration i vandet, der forlader pløjelaget efter sprøjtning, er behæftede med store usikkerheder, men viser, at den årlige TFA middelmålinger for flere dyrkningsscenarier sandsynligvis vil overskride 0,1 µg/L. Der bør derfor foretages egentlige risikovurderinger for tilladte pesticider, der indeholder C-CF₃ grupper.

Summary

Introduction. This report examines the extent to which trifluoro-pesticides (C-CF₃ pesticides) can be converted to trifluoroacetic acid (TFA) in agricultural soil. Two general degradation pathways have been proposed for C-CF₃ pesticides. In one pathway, the molecule is hydroxylated by microbial dioxygenases, after which fluoride is released. There is consequently a theoretical possibility that the C-CF₃ pesticides may be completely defluorinated without formation of TFA, as previously shown for the simple compound benzotrifluoride. But the C-CF₃ pesticides are complex molecules with substituents and large reactive side groups that can react instead of the CF₃ group. Another degradation pathway is therefore also possible, a pathway where the pesticide molecule is gradually broken down until only TFA remains as the last persistent residue. At the start of the project, only flufenacet and flurtamone were generally recognized as pesticide sources of TFA, these pesticides have not been allowed in Denmark. With two types of competing reaction pathways, the project's two central research questions were: 1) Can C-CF₃ pesticides used in Denmark break down to TFA in agricultural soil? 2) If so, are the amounts of formed TFA sufficient to affect groundwater quality under fields sprayed with C-CF₃ pesticides?

In laboratory experiments, we measured the degradation of C-CF₃ pesticides to TFA in soil samples. We selected seven C-CF₃ pesticide active compounds which have high Danish annual sales, and which represent both compounds with large historical sales and compounds with large current sales. The test compounds were: trifluralin, fluazifop-P-butyl, fluazinam, tau-fluvalinate, diflufenican, fluopyram and mefentrifluconazole. The laboratory experiment consisted of microcosm incubations with transformation under semi-realistic conditions in three agricultural soils (Sv1, Sv3 and Sv6) over 52 weeks. All seven tested C-CF₃ pesticides could be converted to TFA, but the TFA formation varied both from compound to compound and from soil to soil. Fluopyram had the highest TFA formation at 10.7%±0.4% of the pesticide amount added in the Sv6 soil, but less formation in Sv1 (7.9%±0.3%) and considerably less in Sv3 (3.3%±0.2%). Fluazinam also had high TFA formation (5.3% - 6.5%), but unlike fluopyram there were only modest differences between soils. TFA formation was lower for the other compounds with 2.4%-5.2% for diflufenican, 3.0%-5.3% for fluazifop-P-butyl, 1.1%-2.2% for trifluralin, 0.8%-3.3% for mefentrifluconazole and 0.4%-1.1% for tau-fluvalinate. However, the potential for TFA formation is underestimated when the TFA concentration is reported relative to the concentration of the added parent compound, if a large part of the parent compound remains at the end of the experiment. This was the case for mefentrifluconazole, fluopyram and diflufenican, where 80%-87%, 61%-75% and 26-38%, respectively, of the parent compound remained after 52 weeks of incubation. Fluazinam and fluazifop-P-butyl/fluazifop had largely disappeared after 52 weeks. With the developed analytical method, it was technically impossible to measure tau-fluvalinate and trifluralin concentrations.

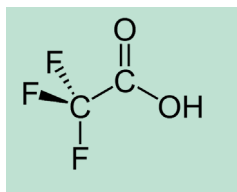
Estimates of leaching from sprayed fields. The TFA formation was used to calculate rough estimates of theoretical TFA-leaching from the plough layer of sprayed fields during one year after spraying. Estimates of the annual mean TFA concentrations in the water leaving the plough layer varied for different crops and spraying at different growth stages. Mefentrifluconazole and tau-fluvalinate gave low estimates, well below the drinking water and groundwater pesticide threshold value of 0.1 µg/L, probably because these compounds sorb strongly to soil organic matter and therefore were converted slowly. Diflufenican gave estimates of 0.05-0.12 µg/L. Fluopyram, fluazinam, fluazifop-P-butyl, and trifluralin all gave high estimates >0.1 µg/L for many scenarios. The high estimates are basically due to TFA's high persistence, a property which differs from most other pesticide degradation products, which are degraded to a greater or lesser extent before leaving the plough layer. The estimates have large uncertainties, the

most important of which are: 1) Degradation tests in small soil samples in the laboratory over 52 weeks do not correspond to the in-situ conditions in the field. 2) There will be conversion of the C-CF₃ pesticides and their C-CF₃ metabolites into TFA beyond the duration of the degradation test of 52 weeks, i.e., repeated, annual spraying could give higher mean TFA concentrations than estimated. 3) The estimates are calculated based on the proportion of pesticide that is deposited directly on the ground by spraying and which can amount to as little as 10% of the sprayed amount. If the pesticide or transformation products on the crop still end up in the soil, due to rain wash-off or degradation of dead plant biomass, this could in some cases increase the TFA concentration considerably. It should be noted that the estimated mean concentrations are in all cases far below the Danish, health-based drinking water quality standard of 9 µg/l.

Conclusion: All seven tested C-CF₃ pesticides convert to TFA in soil, but the formation rates vary greatly from compound to compound and from soil to soil. The conversion to TFA is likely to continue for more than one year after spraying. Rough estimates of the annual TFA concentration in the water leaving the plough layer after spraying have large uncertainties but show that the annual mean TFA concentration for several cultivation scenarios is likely to exceed 0.1 µg/L. Actual risk assessments should therefore be carried out for permitted pesticides containing C-CF₃ groups.

1. Introduktion

Trifluoreddikesyre er en lille organisk syre, der også kendes under synonymerne trifluoroacetic acid (TFA), 2,2,2-trifluoroacetic acid, trifluoroethansyre og perfluoreddikesyre. TFA har to kulstofatomer, hvor det ene kulstofatom er en carboxylsyre, og hvor der er bundet tre fluoratomer til det andet kulstofatom, dvs. ét perfluoreret kulstofatom (FIGUR 1). TFA er det mindste stof i den kemiske stofgruppe perfluorcarboxylsyrer (PFCA) og tilhører dermed den kemiske gruppe PFAS, som er en forkortelse af per- og polyfluoralkylstoffer (OECD, 2021). TFA er en ekstremt kraftig organisk syre med pKa på ca. 0,5, hvorfor stoffet altid er fuldt dissocieret i vand.



FIGUR 1. Den molekylære struktur for trifluoreddikesyre (TFA).

TFA er sandsynligvis både kemisk stabilt og biologisk unedbrydeligt (Alexandrino et al., 2018; Scheurer et al., 2017). TFA sorberer sjældent i jorden, men der kan dog ses nogen tilbageholdelse i jorde med højt indhold af organisk materiale eller nogle mineraljorde med højt indhold af jern og aluminium (Richey et al., 1997). I disse jorde svarede TFA-tilbageholdelsen i store træk til tilbageholdelsen af klorid og bromid. Hvis de begrænsede data er korrekte, betyder det, at når først TFA er i grundvandet, vil det sandsynligvis følge vandets strømning og kun mindskes i koncentration ved opblanding med TFA-frit grundvand.

1.1 Grundvandets TFA-indhold

I 2020 blev udvalgte indtag i grundvandsovervågningen screenet for TFA-indhold. TFA indgik i 2020-screeningen, da det kan dannes i jord ved nedbrydning af pesticid-aktivstofferne flurtamon og flufenacet (Figur 13), der dog ikke har haft registreret anvendelse i Danmark. TFA blev overraskende fundet i 219 ud af 247 analyserede indtag (88,7%), i 212 tilfælde over kravværdien for pesticidstoffer på 0,1 µg/L svarende til 85,8% af de undersøgte indtag. Den højeste koncentration i screeningen var 2,4 µg/L. Udover de to pesticidstoffer kan TFA dannes ved atmosfærisk nedbrydning af HFC- og HFO-gasser i atmosfæren, gasser der blandt andet bruges som drivmidler i spraydåser, som kølemidler, og som bedøvelsesmidler (fx halothan og isofluran). Derudover dannes TFA ved afbrænding af fluorpolymerer (teflon) og andre perfluorerede stoffer. Nedbør er derfor en væsentlig kilde til TFA i grundvandet i Danmark. Den tilgængelige litteratur på området er for nylig gennemgået af Albers (2024), som også målte TFA i danske nedbørsprøver. Albers (2024) konkluderede at: "Data for TFA-koncentrationer i nedbør er stadig ret begrænsede, men de direkte og indirekte målinger, som findes, indikerer en kraftig stigning over de sidste 30-40 år. Der ser desuden ud til at være meget stor tidlig variation i TFA-koncentrationen i nedbør (højere om sommeren med høj solindstråling og i korte nedbørshændelser med udvaskning af ophobet TFA). Det samlede indtryk ud fra publicerede data er, at der i øjeblikket kan forventes en gennemsnitlig TFA-koncentration på et sted mellem 0,2 og 0,5 µg/L TFA i nedbør, dog sandsynligvis også med nogen (og stigende) geografisk variation. En række målinger af TFA i nedbør over København samt enkelte målinger andre steder på Sjælland, alle udført i perioden juni 2023 til januar 2024, bekræfter en betydelig variation i TFA-koncentration, fra 0,1-4 µg/L". TFA i nedbøren er blevet monitoreret over et år i Tyskland, hvor den nedbørsvægtede middelkoncentrationen varierede mellem 0,19 µg/L og 0,52 µg/L

Da TFA er yderst stabilt i jordmiljøet med default halveringstider på >1000 dage i pløjelaget (Pesticides Properties Database), kan TFA derfor være den sidste persistente rest, når C-CF₃ pesticider nedbrydes. De helt centrale spørgsmål i denne rapport er derfor, om C-CF₃ pesticider generelt kan omdannes til TFA, og i hvor høj grad en sådan omdannelse bidrager til TFA i det danske grundvand.

1.2 Pesticider som er testet for omdannelse til TFA

1.2.1 Omdannelse til TFA i jord

I løbet af projektperioden har TriFluPest-projektet fået oplyst fra en tysk TFA-arbejdsgruppe, at en række pesticid-aktivstoffer er testet for omdannelse til TFA (TABEL 1). Hvor det tidligere kun var flufenacet og flurtamon, der blev anset som pesticidkilder til TFA i jord (Miljøministeriet, 2021), demonstrerer opgørelsen fra den tyske arbejdsgruppe, at TFA kan være et nedbrydningsprodukt fra en række C-CF₃ pesticider, dannelsesfraktionen (TFA-Formierungsrate je CF₃ moiety) varierede dog fra næsten fuld omdannelse til ikke-målbare. Hvor meget TFA, der eventuelt vil kunne være dannet i dansk landbrugsjord, afhænger derfor i høj grad af, hvilke stoffer der er anvendt på markerne. Desværre er en del af stofferne anonymiseret af den tyske TFA-arbejdsgruppe, hvorfor vi ikke kan afgøre om data for disse stoffer er relevante for dansk grundvand. Diflufenican er tilladt i Danmark og har historisk haft stort salg og mefentrifluconazol har været tilladt siden 2021 med stort salg. Begge stoffer dannede ikke målbare TFA-mængder med den anvendte metode (<5% omdannelse til TFA, TABEL 1).

Flufenacet havde den højeste dannelsesfraktion på 0,733. Ifølge Miljøstyrelsens bekæmpelsesmiddeldatabase har flufenacet ikke været tilladt som sprøjtemiddel i Danmark. Ikke desto mindre er flufenacet påvist i overfladeafstrømning fra marker i bekæmpelsesmiddelprojektet SurfPest (Kronvang et al., 2022).

TABEL 1. Stoffer som ifølge en tysk TFA-arbejdsgruppe er testet for TFA-dannelse i jord. Fem af stofferne er anonymiseret af TFA-arbejdsgruppen.

Stof	Dannelsesfraktion pr CF ₃ -enhed	Kilde
Flufenacet	0.733	AIR3, draft LoEP, several Notifier
Herbicide A	0.515	AIR5, data submitted to RMS
Tritosulfuron ¹	0.78 - 1.17	AIR3, data submitted to RMS
Flurtamone	0.300	AIR3, non-renewal, draft LoEP
Fungicide A	0.292	AIR4, data submitted to RMS
Fungicide B ²	0.270	AIR5, data submitted to RMS
Metaflumizone ³	max. 0.25	AIR5, DAR 2012
Insecticide A	0.153	AIR4, published 05/2021
Diflufenican	<0.05	AIR3, draft LoEP, several Notifier
Herbicide B	<0.05	AIR4, conclusion of RMS, 05/2022
Cyflumetofen	< 0.05	AIR5, data submitted to RMS
Mefentrifluconazol	< 0.05	DAR 2018
Picolinafen	< 0.05	AIR2, revised dRAR 2015

¹ Tritosulfuron har to CF₃-grupper

² Fungicide B har to CF₃-grupper, dannelsesfraktionen gælder kun for den ene.

³ Metaflumizon har to CF₃-grupper men den ene er en O-CF₃ gruppe som ikke kan omdannes til TFA.

Ifølge Bayer kan der ikke påvises TFA fra diflufenican (Bayer CropScience, 2016), men for fluopyram varierer dannelsesfraktionen fra ikke-målbar til 7,4% (Bayer CropScience, 2021). Man skal bemærke, at i fluopyram var det kun den ene C-CF₃-gruppe, der var ¹⁴C-mærket, hvad der sker med molekylets anden C-CF₃-gruppe, kan man ikke afgøre med de anvendte mærkninger. Fluopyram er godkendt i Danmark med store salgstal de senere år (FIGUR 4).

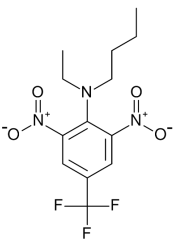
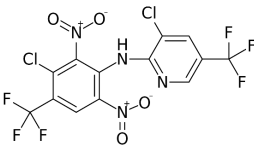
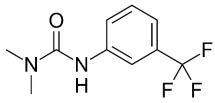
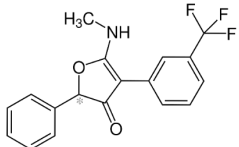
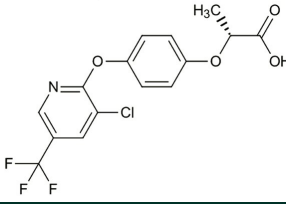
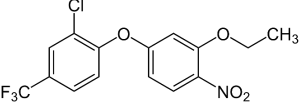
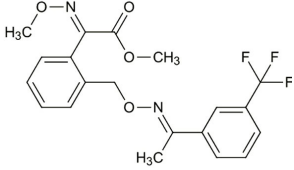
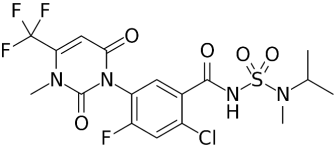
I vores litteraturgennemgang, har vi også erfaret, at herbicidet haloxyfop kan omdannes til TFA i jorden. Dette er vist i lysimeterforsøg, hvor haloxyfop blev tilført på tre tidspunkter, der er typiske for raps og sukkerroe i Nordeuropa (EFSA, 2009). For TFA i perkolatet var de højeste årlige middelkoncentrationer 0,085 µg/L ved forårsudbringning og 0,079 µg/L ved efterårsudbringning. Haloxyfop har så vidt vides ikke været brugt i Danmark, men haloxyfop-ethoxyethyl har været tilladt som sprøjtemiddel i perioden 1992-2007 (TABEL 3). Haloxyfop-ethoxyethyl er en haloxyfop-ester, der i jorden omdannes til haloxyfop (Pesticides Properties Database). Sprøjtning med haloxyfop-ethoxyethyl må derfor forventes at have bidraget til TFA i grundvandet.

1.2.2 Omdannelse til TFA i metabolismestudier

C-CF₃ stoffers omdannelse til TFA sker ikke kun i jorden, idet nogle C-CF₃ pesticider omdannes til TFA i planter metabolisme. I EFSA's vurdering af pesticidet saflufenacil indgår en gennemgang af en række pesticiders omdannelse til TFA i metabolismestudier, hovedsageligt omdannelse til TFA i planter (EFSA, 2014). Der er givet data for 43 pesticid-aktivstoffer og ud af disse blev 8 omdannet til TFA i metabolismestudier (TABEL 2). Af de TFA-positive stoffer har fluazinam været markedsført i DK, benfluralin er strukturelt næsten identisk med trifluralin, der har været solgt i DK i stor mængde, og haloxyfop er major metabolite fra haloxyfop-ethoxyethyl, der også har været solgt i betydelig mængde. Det må formodes at TFA dannet i afgrøder i et vist omfang ender i jordmiljøet med risiko for udvaskning til grundvandet. Det kunne fx ske ved nedpløjning og formuldning af snittet halm, udbringning af husdyrgødning indeholdende strøelse, og evt. ved formuldning af rødder og stubbe fra planter der har været behandlet med systemiske C-CF₃ pesticider.

Blandt stofferne uden påvist TFA-dannelse i metabolismestudierne er også en del, der har været markedsført i Danmark: lambda-cyhalothrin, diflufenican, fipronil, flonicamid, fluazifop-P (solgt som fluazifop-P-butyl), fluopicolid, fluopyram, flupyrsulfuron-methyl, tau-fluvalinat, picolinafen, picoxystrobin, pyroxsulam, tefluthrin og triflusulfuron (solgt som trflusulfuron-methyl).

TABEL 2. Pesticidstoffer som ifølge EFSA (2014) kan give TFA i metabolismestudier.

Stof	Struktur
Benfluralin ³	
Fluazinam ¹	
Fluometuron	
Flurtamone	
Haloxypop-R ²	
Oxyfluorfen	
Trifloxystrobin	
Saflufenacil	

¹ Markedsført i Danmark

² Haloxypop er major metabolite fra haloxypop-ethoxyethyl, der har været markedsført i Danmark.

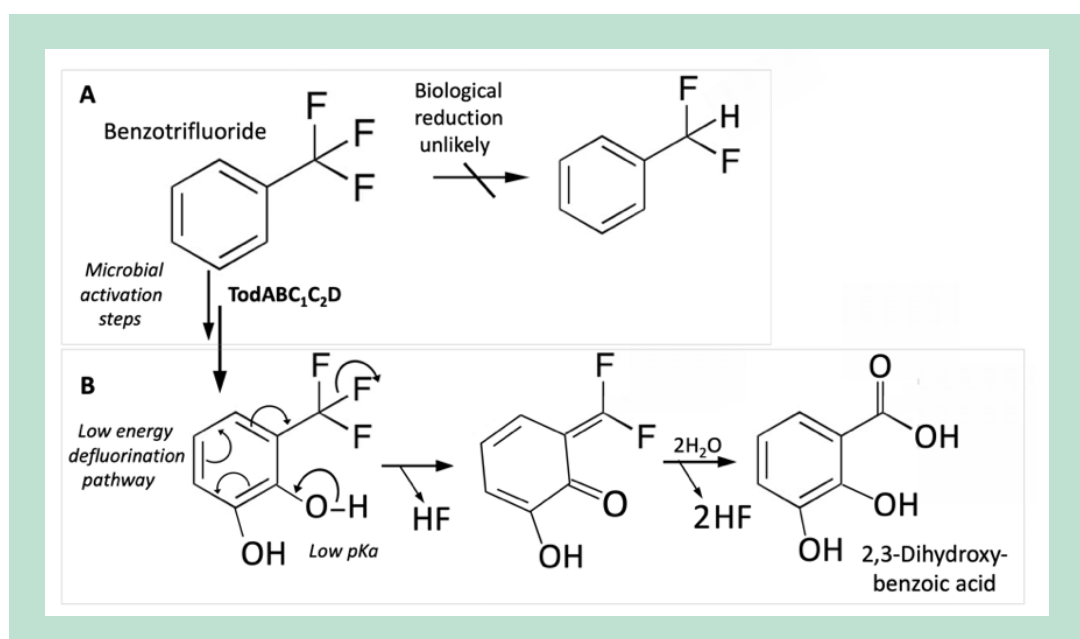
³ Benfluralin er strukturelt næsten identisk med trifluralin, der har været markedsført i Danmark.

EU's referencelaboratorium for pesticidrester har undersøgt forekomsten af TFA i frugt og grønt fra konventionelt jordbrug og fra økologisk jordbrug (EU Reference Laboratories for Residues of Pesticides, 2017). I rapporten konkluderes at: "...the overall frequency of TFA findings exceeding the reporting limit is clearly higher in conventionally produced products compared to organic ones. This suggests that there is, as expected, a link between the frequency

of TFA findings and conventional farming. This is particularly evident in the case of vegetables.” Påvisning af TFA var altså tydeligt koblet med konventionelt jordbrug, hvilket jo ligger på linje med metabolisme-studierne rapporteret af EFSA (TABEL 2). For lave TFA-koncentrationer var der dog ingen forskel mellem konventionelle og økologiske produkter, hvilket tolkes som et generelt lavt TFA-baggrunds niveau, der er uafhængigt af pesticidanvendelse.

1.3 C-CF₃-aromater kan have to typer nedbrydningsveje hvor kun den ene giver TFA

Det er ikke givet, at et stof nedbrydes til TFA, bare fordi det indeholder en C-CF₃-gruppe. I litteraturen er beskrevet, at ringforbindelser med en CF₃-gruppe i nogle tilfælde kan defluoreres til frit fluorid i stedet for dannelse af TFA. Dette kan eksemplificeres med benzotrifluorid (FIGUR 3, Yano et al., 2015; Wackett, 2022). Efter reaktion med bakterielle aromat dioxygenaser, i dette tilfælde toluen-dioxygenase (tod), dannes en dihydrodiol med hydroxy-grupperne i ortho-meta position. Molekylet omløjer med frigivelse af en fluorid-ion, hvorefter det reagerer med vand og frigiver yderligere to fluorid-ioner.



FIGUR 3. Mikrobiel defluorering af benzotrifluorid efter reaktion med toluen-dioxygenase, der introducerer hydroxy-grupper i ortho- og meta-position (Wackett, 2022)

Et andet studie har påvist mikrobiel defluorering af det farmaceutiske C-CF₃-stof fluoxetin (Kahn et al., 2021). Tre renkulturer med catechol-2,3-dioxygenase aktivitet frigav fluorid efter inkubation med fluoxetin eller metabolitten trifluormethylphenol (TFMP), men samtidig var der også akkumulering af TFA, hvilket viser, at der var to konkurrerende nedbrydningsveje, hvor den ene dannede fluorid, mens den anden dannede TFA. I modsætning til benzotrifluorid, går den foreslåede nedbrydningsvej via hydroxylering i meta-para-positionerne (meta-cleavage). Frigivelsen af fluorid og TFA fra fluoxetin er veldokumenteret i artiklen, men nedbrydningsvejen er mere spekulativ, og der mangler massebalancer for de dannede stoffer.

På nuværende tidspunkt vides ikke, i hvor høj grad C-CF₃ pesticiderne kan defluoreres af aromat dioxygenaser i jorden. I modsætning til benzotrifluorid er ét eller flere C-atomer i pesticidernes C-CF₃-ringe ofte substitueret med N eller O, ringene kan være chlorerede, og derudover har pesticidstofferne ofte store og kemisk komplekse sidegrupper. Man kan derfor ikke umiddelbart vurdere, om dioxygenase-attack vil føre til frigivelse af fluorid eller om bindinger vil blive brudt andre steder i molekylet, så der kan dannes TFA.

1.4 Forskningsspørgsmål og forsøg

Data for pesticiderne flufenacet og flurtamon viser, at TFA kan være den sidste persistente rest, når C-CF₃ pesticider nedbrydes i jorden. Forsøg med benzotrifluorid viste på den anden side, at almindeligt forekommende dioxygenaser kan nedbryde trifluor-gruppen i benzotrifluorid til frit fluorid. Man må formode at en eventuel dannelse af frit fluorid fra andre C-CF₃ stoffer vil afhænge af stoffernes specifikke molekulære struktur, hvor andre reaktive bindinger i varierende omfang kan modtage elektroner ved omlejring af hydroxy-grupperne. Med disse to typer konkurrerende reaktionsveje er projektets to centrale forskningsspørgsmål:

- 1) Kan C-CF₃-pesticider anvendt i Danmark nedbrydes til TFA i landbrugsjord?
- 2) Hvis ja, er de dannede TFA-mængder så tilstrækkelige til at påvirke grundvandskvaliteten under marker, som er sprøjtet med C-CF₃-pesticider?

Til at besvare disse to spørgsmål var projektet inddelt i fire arbejdsopgaver:

A: Implementering af analytiske metoder til TFA og moderstoffer. Udvikling og implementering af en TFA-metode er udfordrende, idet TFA for det første er meget polært og derfor svært at tilbageholde på kolonner, dels at der er afsmitning fra mange materialer, så mange septre, sprøjter, filtre etc. skal testes for at finde den optimale kombination. Analysemetoderne er beskrevet i kapitel 8.

B: Identificering af C-CF₃-pesticider, der har været markedsført i Danmark og prioritering ud fra salgstonnager og salgsår.

C: Laboratorieforsøg til at belyse, om "danske" C-CF₃ pesticider kan nedbrydes til TFA i jord. Laboratorieforsøgene bestod dels af en pilotscreening, hvor landbrugsjord blev screenet for omdannelse af C-CF₃ pesticider til TFA under optimale betingelser i jordslurry, dels af mikrokosmosforsøg med omdannelse under semi-realistiske betingelser i jord.

D: Overslag over hvor meget C-CF₃ pesticiderne kan bidrage til TFA i grundvandet, dvs. overslag over den årlige middelkoncentration i nettonedbør, der forlader pløjelaget under sprøjtede marker i forskellige afgrøder.

2. Identificering af C-CF₃ pesticider, solgte mængder og projektets modelstoffer

2.1 Identificering af pesticidstoffer med C-CF₃ struktur som har været solgt i Danmark

Første prioritet var at identificere alle stoffer med en C-CF₃-gruppe, som har været solgt som bekæmpelsesmiddel i Danmark. Til dette formål startede vi med en søgning i Pesticides Properties Database (PPDB), hvor pesticid-moderstoffer opgives med trivialnavn, PIN-navn (preferred identification name), IUPAC-navn og CAS-navn. Derudover er de fleste kendte nedbrydningsprodukter også opgivet. Søgning alene på "trifluor" gav ikke alle C-CF₃ stoffer fx kom lufenuron ikke med, fordi den har en hexafluor-gruppe. Potentielle stoffer blev derfor identificeret ved søgning på termerne "trifluor", "tetrafluor", "pentafluor" og "hexafluor" (8/11-2022). "trifluor" gav 275 stoffer inklusiv transformationsprodukter, "tetrafluor" gav 26 stoffer, "pentafluor" gav 2 stoffer og "hexafluor" gav 8 stoffer. Transformationsprodukter blev sorteret fra ved opslag i PPDB. De tilbageværende moderstoffer var en blanding af stoffer solgt i Danmark og stoffer, der ikke har været godkendt i Danmark. For at identificere stoffer, som har været solgt i Danmark, søgte vi på stofnavne og dele af stofnavn i bekæmpelsesmiddelstatistikken 1956-2017 (Miljøstyrelsen 2017) og bekæmpelsesmiddelstatistikken 2012-2020 (Miljøstyrelsen 2022). De markedsførte moderstoffers molekylære struktur blev hentet i PubChem eller PPDB for at bekræfte C-CF₃ strukturen, idet stoffer kun med O-CF₃, S-CF₃ eller N-CF₃ strukturer ikke kan omdannes til TFA og derfor skal sorteres fra. Det drejede sig om stofferne triflumuron (O-CF₃), mefluidid (S-CF₃), indoxacarb (O-CF₃) og flurprimidol (O-CF₃). Endelig suppleredes listen med C-CF₃ stoffer som er godkendt efter 2020, dvs. mefentrifluconazol og oxathiapiprolin. Den samlede liste over C-CF₃ pesticidstoffer solgt i Danmark fremgår af TABEL 3, herunder salgsperiode, samlet salg i hele salgsperioden og salg per år i salgsperioden.

TABEL 3. Salg af C-CF₃ pesticider i Danmark ifølge Miljøstyrelsens årlige bekæmpelsesmiddelstatistikker. Stoffer uden sidste salgsår er stadigvæk markedsførte og derfor tilladte i jordbruget (juli, 2024).

Stof	Salgsperiode	Samlet salg [kg]	Salg per år [kg/år]
Bifenthrin	2011-2013	31	10
Diflufenican	1999-	664300	27679
Fipronil	1998-2016	68	3,6
Flocoumafen	1988-2017	11	0,4
Fonicamid	2008-	11437	762
Fluazifop-butyl	1983-1990	399997	50000
Fluazifop-P-butyl	1991-2012	188287	8559
Fluazinam	1998-	193411	7736
Fluopyram	2017-	228088	38015
Flupyrsulfuron-methyl	2002-2017	5731	358
Fluvalinat	1986-1986	781	781

Stof	Salgsperiode	Samlet salg [kg]	Salg per år [kg/år]
gamma-Cyhalothrin	2010-2013	577	144
Haloxypop-ethoxyethyl	1992-2007	59543	3721
lambda-Cyhalothrin	1990-	49183	1490
Mefentrifluconazol	2021-	63504	31752
Oxathiapiprolin	2022-	651	651
Picolinafen	2007-2013	5262	752
Picoxystrobin	2006-2017	20424	1702
Pyroxsulam	2010-	21470	1652
Sedaxan	2019-2023	135	45
tau-Fluvalinat	1996-	217789	8066
Tefluthrin	1989-	27304	803
Trifluralin	1969-2007	883318	22649
Triflusulfuron-methyl	1996-2022*	11748	435

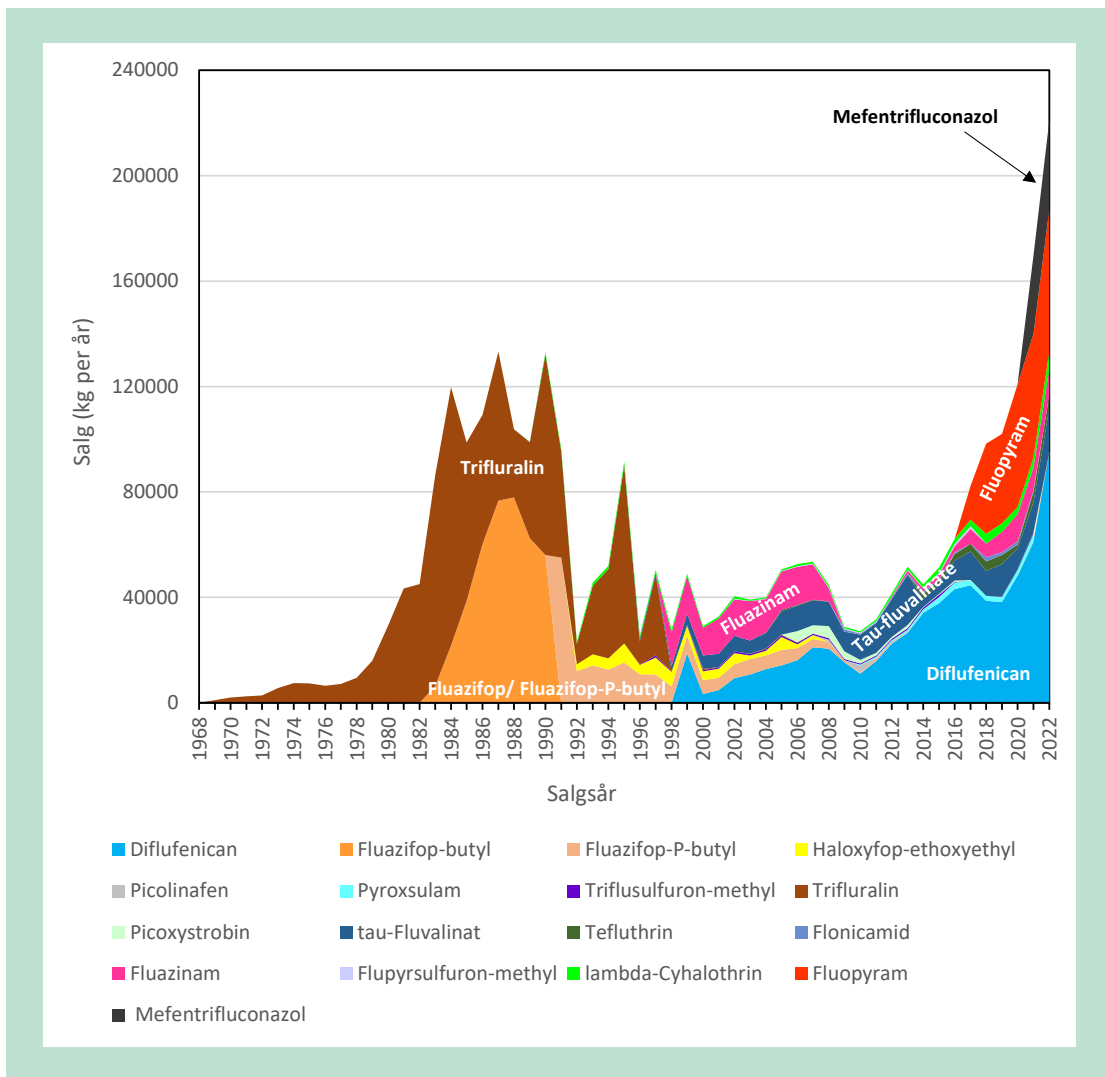
*Ingen godkendte midler i Bekæmpelsesmiddeldatabasen i 2024, kan muligvis have været tilladt i 2023.

Derudover kan man formode, at fungicidet fluopicolid importeres som bejdset udsæd fx i raps (SEGES, 2020). Det er ikke lovligt at sprøjte eller bejdse med fluopicolid i Danmark, men man kan lovligt importere bejdsede frø fra et andet EU-land, hvor stoffet er tilladt. Det vides ikke, hvor meget fluopicolid-bejdset udsæd, der har været anvendt i Danmark.

I FIGUR 4 er salget vist grafisk for stoffer med et samlet salg i hele salgsperioden på mere end 1000 kg. Ud fra TABEL 3 og FIGUR 4 er det tydeligt, at forskellige stoffer har domineret i forskellige perioder og at nogle få stoffer står for hovedparten af salget. I de første år var trifluralin det dominerende stof, fra 1982 efterfulgt af fluazifopbutyl/fluazifop-P-butyl. Fra 1999 var diflufenican dominerende indtil omkring 2020, hvor salget af fluopyram steg kraftigt efterfulgt af mefentrifluconazol fra 2021. Fra sidst i 90'erne har fluazinam og tau-fluvalinate også haft et betydeligt salg.

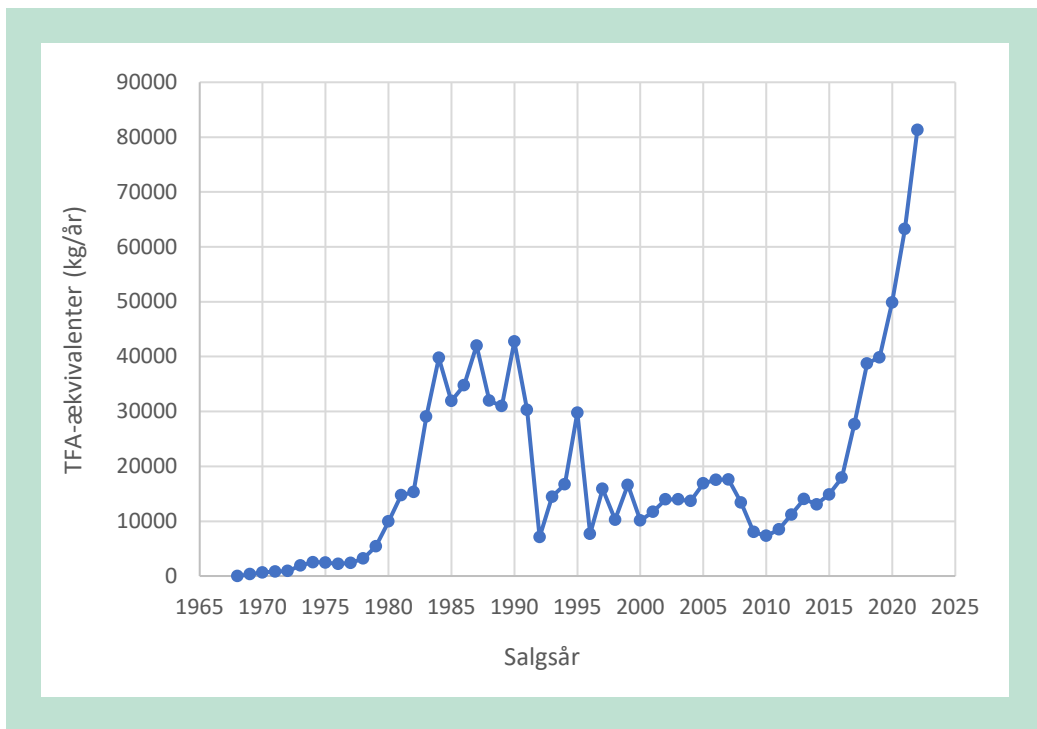
Idet de forskellige stoffer kan have én eller to C-CF₃-grupper, og da størrelsen af det øvrige molekyle varierer, er salgstallene i FIGUR 5 omregnet til potentielle årlige mængder TFA (TFA-ækvivalenter). Det store salg af trifluralin og fluazifop op gennem 1980'erne er mindre markant, når der omregnes til TFA-ækvivalenter. Det ses også, at målt som TFA-ækvivalenter har salget været stejlt stigende siden 2016 og i seneste salgsstatistik (salgsår 2022) betydeligt højere end på noget tidligere tidspunkt.

I 2022 svarede de solgte mængder C-CF₃ pesticid til 81.000 kg TFA-ækvivalenter. Det samlede atmosfæriske TFA-bidrag med nedbøren i Danmark er for nyligt estimeret til 7.000-16.000 kg pr. år (Albers, 2024). Det potentielle bidrag fra pesticider er derfor langt større end det atmosfæriske bidrag. Det må dog forventes, at kun en del af dette potentiale faktisk realiseres under markforhold, idet der jo er konkurrerende nedbrydningsveje med nedbrydning til fluorid i stedet for TFA (FIGUR 3), noget pesticid muligvis kan bindes hårdt eller kovalent i jorden så det ikke nedbrydes til TFA, TFA og moderstof kan fjernes fra marken ved høst osv.



FIGUR 4. Årligt summeret salg af C-CF₃ pesticider ifølge Miljøstyrelsens årlige bekæmpelsesmiddelstatistikker. Figuren viser kun stoffer med et samlet salg i hele salgsperioden >1000 kg

Nogle C-CF₃ stoffer kan også have været anvendt som biocid, altså uden for landbrugsmæssig anvendelse. Følgende C-CF₃ stoffer står opført på Biociddirektivets annex 1 over stoffer med kendt biocidanvendelse i EU (COMMISSION REGULATION (EC) No 2032/2003): alfa/lambda-cyhalothrin, hydramethylnon, flufenoxuron, cis/trans-flocoumafen, bromethalin, bifenthrin, fipronil, fluometuron og chlorfenapyr. Det er svært at vurdere, omfanget af disse stoffers anvendelse som biocid i Danmark, da mange biocidanvendelser ikke har været indberetningspligtige. Tralopyril er et nyere biocid, der er tilladt som antifoulingsmiddel i EU, men som ikke er på annex 1.



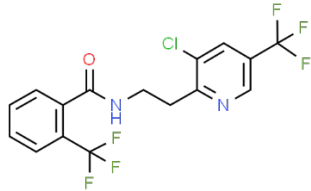
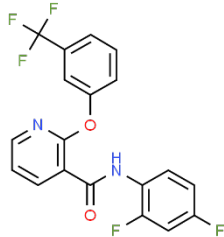
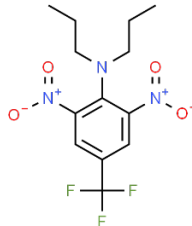
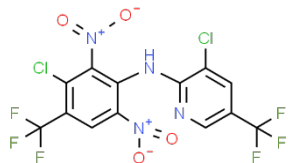
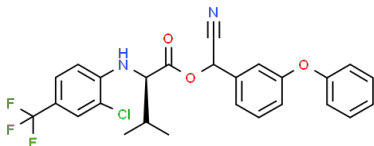
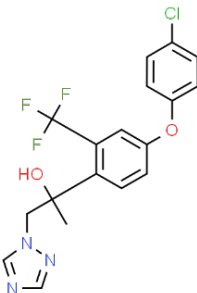
FIGUR 5. Solgte C-CF₃ pesticidmængder omregnet til potentielle TFA-ækvivalenter.

2.2 Projektets modelstoffer

TABEL 4 viser projektets modelstoffer. Stofferne er udvalgt, fordi de har de højeste årlige salgsmængder (aktivstof) og fordi de både repræsenterer stoffer med store historiske salgsmængder, fx trifluralin, fluazifopbutyl fluazinam, tau-fluvalinat og diflufenican, og stoffer med et stort nutidigt salg fx diflufenican, fluopyram og mefentrifluconazol. Fluazifop-butyl har været markedsført i to versioner, først som en racemisk blanding (fluazifop-butyl) med et årligt middelsalg på 50000 kg/år, og derefter som den aktive stereoisomer (fluazifop-P-butyl) med et årligt salg på 8559 kg/år. I grundvandsprøver vil det ofte være umuligt at skelne bidraget fra de to formuleringer, hvorfor de betragtes samlet. Som modelstof har vi valgt fluazifop-P-butyl, som indgår i de senest markedsførte formuleringer.

TABEL 4. Projektets modelstoffer, årlige solgte mængder, typisk bionedbrydelighed i jord ifølge PPDB og molekylære struktur.

Stof	Persistens ²	Strukturformel ³
CAS RN	DT50	
Status		
Salgsmængde ¹		
Fluazifop-P-butyl	Typisk: 1 dag ⁶	
79241-46-6	Ikke-persistent	
Historisk ¹		
8559 kg/år	Lab 20°C: 0,3-3,3 dage	
(50.000 kg/år) ⁵	Mark: 2,1-38,0 dage	

Fluopyram 658066-35-4 Markedsført ⁴ 31.853 kg/år	Typisk: 309 dage Persistent Lab 20°C: 117-717 dage Mark: 93,2-144,6 dage	
Diflufenican 83164-33-4 Markedsført ¹ 23.088 kg/år	Typisk: 94,5 dage Moderat persistent Lab 20°C: 41,4-318 dage Mark: 224-621 dage	
Trifluralin 1582-09-8 Historisk ¹ 22.649 kg/år	Typisk: 133,7dage Persistent Lab 20°C: 66,3-161,6 dage Mark: 35-375 dage	
Fluazinam 79622-59-6 Markedsført ¹ 7616 kg/år	Typisk: 124 dage Persistent Lab 20°C: 12,7-527 dage Mark: 20,7-34,3 dage	
tau-Fluvalinat 102851-06-9 Markedsført ¹ 7579 kg/år	Typisk: 4 dage Ikke-persistent Lab 20°C: 8,1-89,1 dage Mark: 1,64-8,95 dage	
Mefentrifluconazol 1417782-03-6 Markedsført ¹ 29699 kg/år	Typisk: 268 dage Persistent Lab 20°C: 104-477 dage Mark: 96,5-611 dage	
Trifluoroeddikesyre 76-05-1 Nedbrydnings- produkt	Typisk: >2år Meget persistent Lab 20°C: >2år Mark: ?	

¹Miljøstyrelsens bekæmpelsesmiddelstatistikker (Miljøstyrelsen, 2017; Miljøstyrelsen 2022). ²Pesticides Properties Database (PPDB, data downloadet januar, 2022). ³Strukturer er hentet i Chempidder.com ⁴Godkendte produkter (tilladte) er identificeret ved opslag i Miljøstyrelsens Bekæmpelsesmiddeldatabase (februar, 2023). ⁵Salg af den racemiske blanding fluazifop-butyl. ⁶Fluazifop-P-butyl hydrolyseres hurtigt til fluazifop. Fluazifop DT50 typisk: 25 dage

3. Laboratorieforsøg 1: Screening af jorde for potentiel dannelse af TFA

Det første forsøg er udført som en kort-tids screening af forskellige jorde. Screeningen var en test for, om man hurtigt kan bestemme jordenes evne til at omdanne C-CF₃-pesticiderne til TFA med en "quick-and-dirty" metode, hvor nedbrydningen accelereres af optimale vækstbetingelser mht. næringssalte, kulstof, omrøring og temperatur. Forsøget var inspireret af fluoxetin-studiet (Kahn et al., 2021), men inkubationen var forlænget til 30 dage pga. pesticidernes større hydrofobicitet og dermed lavere tilgængelighed sammenlignet med fluoxetin og med 1/5 stofkoncentration for at mindske pesticidernes negative effekter på mikroorganismene. Udover metode-test og sammenligning med fluoxetinforsøget, var formålet også at teste om: i) Der kunne måles en effekt af præeksposering med C-CF₃ pesticider, dvs. om der var stor forskel på TFA-dannelse i konventionelt drevne jorde, der over årene har været eksponeret for forskellige C-CF₃ pesticider, og økologiske jorde, der ikke har været eksponeret. ii) Der var forskel i TFA baggrunds niveauer i konventionelle jorde og økologiske jorde. iii) Give en indikation af relative TFA dannelseshastigheder.

I screeningen blev jordslurry (én del jord til 4 dele 10%-styrke Bushnell-Haas mineral medium) inkuberet med C-CF₃ pesticider i oxisk, flydende rystekultur. Lidt pepton og gærekstrakt blev derudover tilsat for at give mikroorganismene gode vækstbetingelser. Pesticider blev tilsat i en endelig koncentration på 0,1 mM, dvs. betydeligt højere koncentration end hvad der kan forventes i marken efter sprøjtning. Forsøget indeholdt sterile negative kontroller kun med pesticid (uden jord) eller med jordslurry kun tilsat solvent.

Vi testede seks jorde. Tre var konventionelle landbrugsjorde i omdrift fra Pesticidvarslingsprogrammets marker i Lund (lerjord), Fårdrup (lerjord) og Jyndeved (sandjord). Tre andre var økologiske jorde fra Svanholm Gods, hvoraf én er udlagt som permanent græs (Sv6, sandjord) og to er i omdrift (Sv1, sandjord og Sv3, lerjord).

I dette forsøg er jordslurry fortyndet 10x inden analyse for TFA. Detektionsgrænsen (laveste standard) lå derfor på 0,2 µg/L. Kvantifikationen er sikker for koncentrationer på mindst 1,0 µg/l. Der ses i alle jorde ganske lave omdannelser til TFA varierende fra 0,1-1 promille af den tilsatte pesticidmængde på 30 dage. Der ses størst TFA-dannelse for fluazinam, som omdannes til TFA i alle testede jorde og som også giver de højeste TFA koncentrationer (TABEL 5). Fluazinam-molekylet indeholder to TFA-grupper. Fluazifop-P-butyl viste også tydelig TFA-dannelse i alle jorde. Der var ikke tydelig forskel på TFA-dannelsen fra pesticiderne i de økologiske og de konventionelle jorde. Baggrundsfrigivelsen af TFA (negativ kontrol) var lav i alle jordene uden tydelig forskel på konventionelle jorde og økologiske jorde og forventes derfor at være uproblematisk i hovedforsøget.

TABEL 5. Kort-tids screening af jorde for omdannelse af modelpesticider til TFA i jordslurry. Koncentrationerne angiver TFA-koncentrationen i jordslurryens vandfase. Koncentrationerne er korrigeret for fordampning af vand under inkubationen. VAP-jordene er konventionelt drevet, Svanholm-jordene er økologisk drevet (n=1, RSD angiver variationen af dobbeltinjektion).

	VAP Jydevad		VAP Lund		VAP Fårdrup		Medie kontrol	
	Middel (µg/L)	RSD (%)	Middel (µg/L)	RSD (%)	Middel (µg/L)	RSD (%)	Middel (µg/L)	RSD (%)
Fluopyram	2,7	1,5	2,9	5,7	2,4	2,0	0,3	14,3
Diflufenican	2,3	5,3	1,3	0,0	1,1	0,0	0,3*	-
Trifluralin	2,4	0,0	3,2	1,3	1,8	0,0	<0,2	-
Fluazifop-P-butyl*	4,0	1,0	6,1	2,1	8,1	2,5	0,3*	-
Fluazinam	9,3	2,2	13,1	1,3	10,4	0,4	0,5	0,0
tau-Fluvalinat	0,8	5,3	2,8	2,9	4,0	1,0	<0,2	-
Mefentrifluconazol	0,9	9,1	1,6	2,6	1,4	0,0	0,2*	-
Negativ kontrol**	<0,2	-	0,8	5,3	<0,2	-	0,2	-

	Svanholm Sv1		Svanholm Sv3		Svanholm Sv6	
	Middel (µg/L)	RSD (%)	Middel (µg/L)	RSD (%)	Middel (µg/L)	RSD (%)
Fluopyram	2,5	1,4	9,9	0,8	4,0	0,0
Diflufenican	0,6	-	1,8	4,5	0,9	4,3
Trifluralin	5,3	3,1	3,4	1,2	2,1	2,0
Fluazifop-P-butyl*	4,8	0,9	6,1	6,0	3,6	3,4
Fluazinam	21,8	0,9	11,3	4,7	12,0	0,3
tau-Fluvalinat	1,7	4,8	1,2*	-	0,4*	-
Mefentrifluconazol	0,5*	-	1,8	7,0	0,7*	-
Negativ kontrol**	<0,2	-	0,5*	-	0,3	-

*Forøget usikkerhed idet ratioen mellem arealet af toppen ved m/z 113 → 69 og m/z 113 → 113 i den ene af de to bestemmelser afveg mere end 35% fra ratioen i standarderne.

**Kun afdampet solvent.

Screeningsforsøget er inspireret af et tidligere studie, hvor man testede nedbrydning af C-CF₃ lægemidlet fluoxetin i en mikrobiel blandingskultur fra havejord og i renkulturer med catechol-2,3-dioxygenase aktivitet (Khan et al., 2021). Fluoxetin blev nedbrudt til metabolitten trifluor-methylphenol (TFMP). Nedbrydningsforsøg med TFMP viste dannelse af både TFA og frit fluorid efter bare 72 timers inkubation ved 30 °C. Forsøget har dog den svaghed, at det ikke indeholder kvantitative data for dannelse af TFA direkte fra fluoxetin. I vores test af denne metodiske tilgang kunne vi påvise TFA fra nogle af pesticiderne, men omdannelsesraten var meget lav, og man må konkludere, at metodens følsomhed er for lav og at metoden derfor ikke kan bruges som en generel metode til screening for TFA-dannelse. For at bestemme, om C-CF₃ pesticiderne kan omdannes til TFA i jord, måtte vi derfor udføre egentlige nedbrydningsforsøg som beskrevet i næste kapitel.

4. Laboratorieforsøg 2: Kvantitativ bestemmelse af TFA-dannelse i jord

I dette laboratorieforsøg testede vi for tre landbrugsjorde, om TFA kan dannes ved nedbrydning af de syv udvalgte C-CF₃ pesticider under mere realistiske forhold end i screeningsforsøget. Vi målte, hvor meget TFA der blev dannet over tid i løbet af ét år, samt hvor meget moderstof der var tilbage efter ét år. Jordene var de tre økologiske landbrugsjorde fra laboratorieforsøg 1. De tre jorde indeholder ca. 4% organisk stof, men kornstørrelsesfordelingen varierer (se kapitel 8.2). Et stort antal glasrør á 12 mL blev tilsat 0,5 g finkornet sand og spiket med pesticid opløst i metanol. Vi valgte at spike sand i stedet for en lille jordmængde, idet metanol dræber mange af jordens mikroorganismer og derved frigiver et unaturligt niveau af let-omsætteligt kulstof og næringsstoffer. Det er desuden lettere at afdampe alt metanol fra sand, idet der ofte vil være en rest-koncentration i jord. Efter afdampning af metanolen blev sand+pesticid iblandet ca. 3 g frisk jord (2,5 g tørvægt). Hvert prøverør modtog kun ét pesticid. Inkubationsrør med jord, men uden pesticid, var negative kontroller for et eventuelt TFA-indhold i solventer og vand, jordenes eget indhold af TFA eller TFA-dannende stoffer, samt eventuelt udefrakommende kontaminering med TFA. De åbne rør blev inkuberet i plastkasser med fugtmættet atmosfære for at sikre tilstrækkelig ilt og undgå udtørring. Efter ønske fra Miljøstyrelsen blev jordene inkuberet ved 20°C, som anbefalet i OECD guideline 307. Rørene blev jævnlige vejede og tilsat vand i det omfang vægten var faldet. Efter 0, 4, 10, 24, 38 og 52 ugers inkubation blev TFA ekstraheret fra triplikate rør, kontrolrør dog kun i monoplakat, og analyseret for TFA i randomiseret rækkefølge. Moderstoffernes koncentration blev bestemt efter 0 og 52 ugers inkubation.

Pesticiderne blev tilsat i en endelig koncentration på 10 µmol/kg (tørvægt), dette er for en del stoffer og anvendelser noget højere end markdosis, selv hvis markdosis kun fordeles i den øverste cm jord (TABEL 6). De ensartede og for nogle pesticider forhøjede koncentrationer er valgt for med stor sikkerhed at kunne påvise omdannelse til TFA af ned til 1% af moderstoffet, idet koncentrationer under den ofte rapporterede nedre grænse på 5% (TABEL 1) sandsynligvis vil kunne give udvaskning over pesticidstoffernes generelle kravværdien på 0,1 µg/L pga. TFA's høje persistens og lave sorption. Doser i TABEL 6 er baseret på de tilgængelige brugsanvisninger i Miljøstyrelsens bekæmpelsesmiddeldatabase, hvor det skal bemærkes, at en del ældre midler ikke har brugsanvisninger, der kan derfor være brugt andre doser af ældre midler. I Bekæmpelsesmiddeldatabasen fandtes ingen brugsanvisninger for trifluralin, hvorfor vi i stedet har anvendt behandlingsindeks fra SEGES' Middeldatabase.

TABEL 6. Aktivstof. Sammenligning af mindste og maksimale markdoser, som på et tidspunkt har været tilladt i Danmark og koncentrationer anvendt i nedbrydningsforsøget (10 µmol/kg). Markdoser stammer fra gennemgang af produktetiketter i Bekæmpelsesmiddeldatabasen (november, 2023).

Stof (forsøgsdosis i µg/kg)	Markdosis g/ha	Markdosis fordelt i øverste 1 cm µg/kg	Forsøgsdo- sis/mark- dosis	Afgrøder med denne dosis	Midler med denne dosis
Fluopyram (3967)	56 (min)	375	10,6	Kartoffel	Propulse SE 250; PRO-Tector

Stof (forsøgsdosis i µg/kg)	Markdosis g/ha	Markdosis fordelt i øverste 1 cm µg/kg	Forsøgsdo- sis/mark- dosis	Afgroeder med denne dosis	Midler med denne dosis
	125 (maks)	833	4,8	Korn (vinter- sæd/vårsæd), raps, majs	Propulse SE 250; PRO- Tector
Diflufenican (3943)	21 (min)	140	28,2	Korn (vintersæd og vårsæd)	Accurate delta; Alliance
	125 (maks)	833	4,7	Korn (vinter- sæd/vårsæd)	Agro Bizz Diflufenican; Diflanil 500 SC; Inter- Diflufenican; LFS Diflufenican; Pelican; Sempra SC og Sempra 500 SC
	300 ^A (maks)	2000	2,0	Æbler/Pære	Diflanil 500 SC
Trifluralin (3353)	317 (min ^G)	2112	1,6	Ærter	Alle tidligere tilladte bland-produkter med trifluralin
	859 (maks ^G)	5728	0,6	Grøntsager, raps (vinter/vår)	Alle tidligere tilladte rene trifluralin-produkter
Fluazifop-P-butyl (3834)	125 (min)	833	4,6	Høstet	Max Fusilade
	375 (maks)	2500	1,5	Roer, raps, kar- tofler, ærter m.m.	LFS Fluazifop-P-butyl
Fluazinam (4651)	100 (min)	667	7,0	Kartoffel	LFS fluazinam
	200 ^B (maks ^D)	1333	3,5	Kartoffel	Agros Fluazinam 500; Banjo 500 SC; Dalimo; Frowncide; LFS Fluazi- nam
	2000 (maks ^E)	13330	0,35	Kartoffel	Dalimo; Frowncide
tau-Fluvalinat (5029)	24 (min)	160	31,4	Korn (vintersæd og vårsæd), Kartofler	Agros Tau; Evure Neo
	54 ^C (maks ^D)	360	14,0	Raps, sennep, ærter	Agro Bizz Tau-Flu 2F,
	144 (maks ^F)	1104	5,3	Vintersæd	Evure Neo, Mavrik 2F
Mefentrifluconazol (3978)	56 (min)	375	10,6	Raps (vinter)	Revyona
	150 (maks)	1000	4,0	Korn (vinter- sæd/vårsæd), Raps (vinter)	Balaya; Himalaya Pro; Lenvyor; Revyona

^AAndre nicheafgrøder med høje doser: Zeppelin i skovkulturer, gårdspladser og udyrkede arealer f.eks. vejkanter og jernbaner (280 g/ha); Keeper L i havebrug og planteskolekulturer, skovkulturer, gårdspladser, udyrkede arealer (280 g/ha).

^BHøjere dosis i nicheafgrøde: 250 g/ha i løg, med max 5 behandlinger pr. sæson.

^CHøjere dosis i nicheafgrøde: 72 g/ha i kål.

^DEnkelt sprøjtning

^EVed 10 tilladte behandlinger per sæson

^FVed 3 tilladte behandlinger per sæson

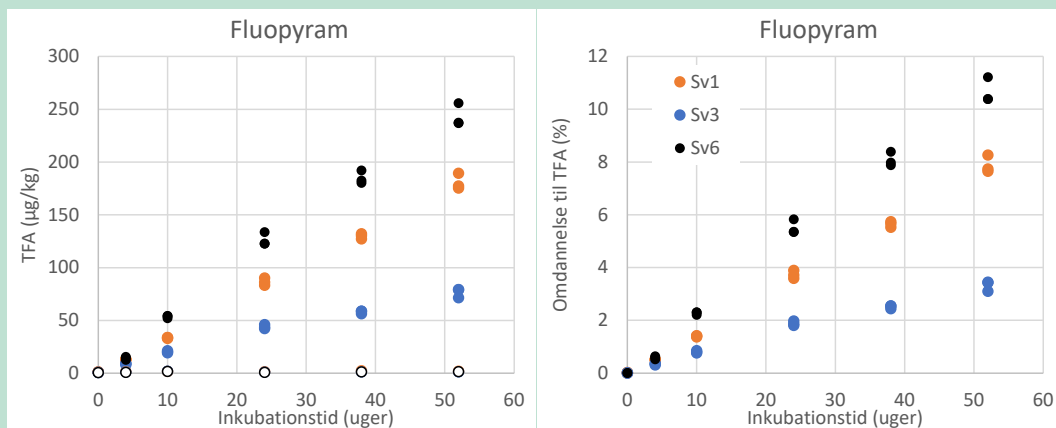
^GBehandlingsindeks fra SEGES' Middeldatabase

De følgende figurer viser dannelse af TFA frem til uge 52. TFA-dannelsen er vist både som absolutte koncentrationer sammenholdt med negative kontroller uden C-CF₃ pesticid (til venstre), og i procent af tilsat C-CF₃ moderstof korrigeret for de negative kontrollers TFA-indhold (til højre). I TABEL 7 opsummeres TFA-dannelsen ved forsøgets afslutning og den geometriske middelværdi er beregnet til brug i scenarierne i kapitel 5. Den geometriske middelværdi anbefales af FOCUS gruppen (FOCUS 2014) for modellens input-parametre og beregnes ved at multiplicere TFA-dannelserne og derefter tage den n'te rod af produktet.

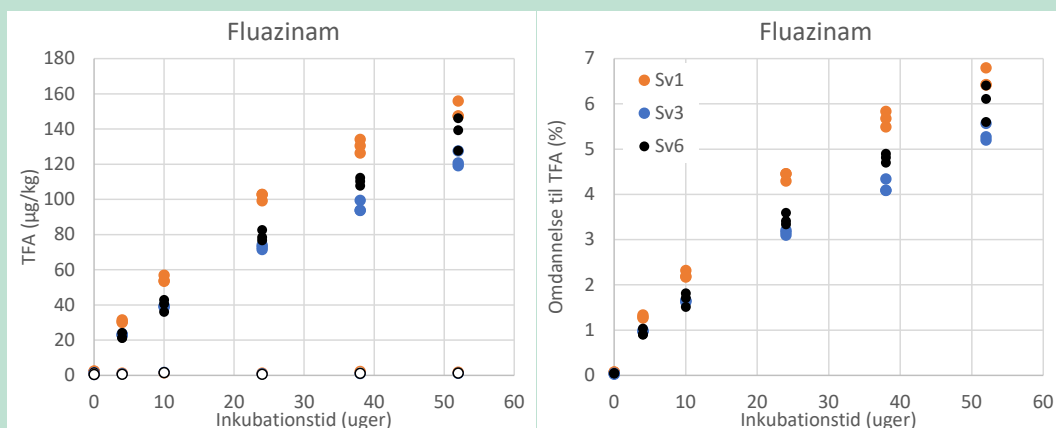
Det skal bemærkes, at fluopyram og fluazinam har to C-CF₃-grupper. Udregnes fluopyrams og fluazinams TFA-dannelse som mol TFA per mol fluopyram eller fluazinam (molprocent) er procent moderstof omdannet til TFA derfor dobbelt så stor som vist i FIGUR 6, FIGUR 7 og TABEL 7.

Det er tydeligt fra figurerne, at TFA-dannelsen ville have været større hvis forsøget havde forløbet over længere tid. Kun fluazinam viser klart aftagende TFA-dannelsesrate i løbet af forsøget i alle tre jorde. For fluopyram og mefentrifluconazol er der tydeligt aftagende TFA-dannelsesrate i Sv3, men ikke i Sv1 og Sv6. I de øvrige inkubationer var TFA-dannelsen tilnærmelsesvis lineær i løbet af hele forsøget. Grundlæggende er det forventeligt, at reaktionsrater aftager over tid, når man inkuberer små jordprøver i reagensglas i et år i laboratoriet. Det skyldes fx, at der ikke tilføres friskt organisk stof fra afgroder, og at der ikke er nedbør, som kan nedbryde diffusionsgradienter i jorden og eventuelt sprede nedbryder-mikroorganismer. Det var derfor overraskende, at mange nedbrydningskurver var tilnærmelsesvis lineære. Der er således ikke tvivl om, at der over tid kan dannes betydeligt mere TFA end angivet i TABEL 7. Ofte vil man fitte en tilnærmet 1.-ordens kinetik til kurver med aftagende reaktionshastighed, det er dog en forudsætning for 1. ordens kinetik, at reaktionshastigheden kun afhænger af substrat-koncentrationen og at det mikrobielle nedbrydningspotentiale er konstant. I vores tilfælde er det lige så sandsynligt, at det skyldtes den langvarige inkubation og det giver derfor ikke mening at fitte 1.-ordens kinetik.

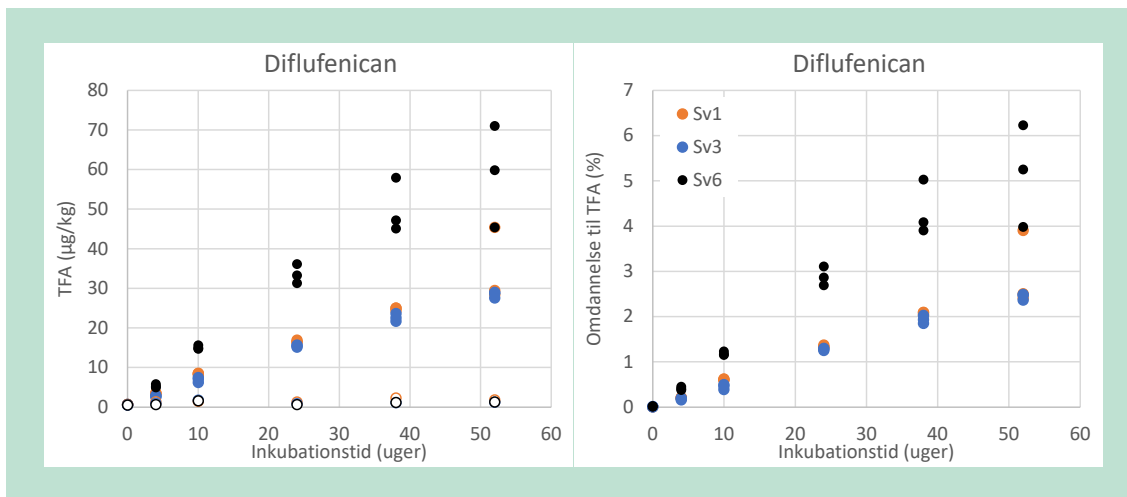
TFA-dannelsen varierede både fra stof til stof og fra jord til jord. Fluopyram havde den største TFA-dannelse på 10,7%±0,4% i Sv6-jorden, med mindre dannelse i Sv1 (7,9%±0,3%) og betydeligt mindre dannelse i Sv3 (3,3%±0,2%). Fluazinam havde også stor omdannelse, men i modsætning til fluopyram var der kun beskedne forskelle mellem jordene. TFA-dannelsen var lavere for de øvrige stoffer med 2,4%-5,2% for diflufenican, 3,0%-5,3% for fluazifop-P-butyl, 1,1%-2,2% for trifluralin, 0,8%-3,3% for mefentrifluconazol og 0,4%-1,0% for tau-fluvalinat (TABEL 7). Selvom TFA-dannelsen var lav for tau-fluvalinat, var den tydeligt over jordenes baggrundsniveau (FIGUR 12), og der er således ingen tvivl om, at alle de syv testede pesticidstoffer kan nedbrydes til TFA, selvom graden varierer mellem stofferne. Som nævnt for fluopyram og fluazinam er der også stor forskel mellem jordene. For de fleste af stofferne var der størst TFA-dannelse i Sv6 (sandjord med permanent græs) og mindst i Sv3 (lerjord i omdrift). De mikrobielle samfunds størrelse og sammensætning kan være forskellige i de tre jorde, og stofferne's biotilgængelighed kan have varieret, men derudover er der ikke indlysende forklaringer på variationen mellem jordene.



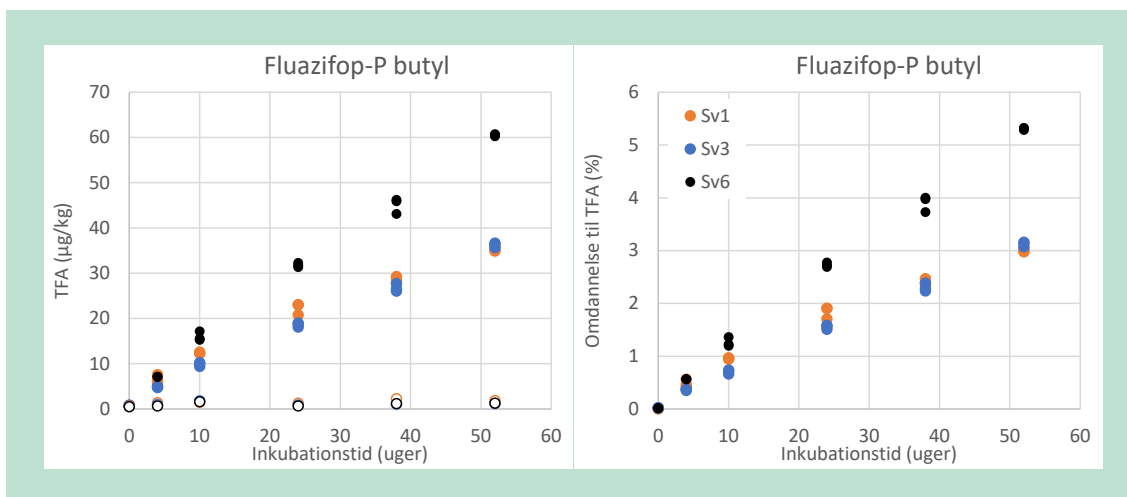
FIGUR 6. Omdannelse af fluopyram til TFA i tre økologiske landbrugsjorde (Sv1, Sv3 og Sv6). Til venstre er dannelsen vist i absolutte koncentrationer ($n=3$) med angivelse af koncentrationer i ikke-spikede kontroller (åbne symboler, $n=1$). Til højre er koncentrationer fratrukket baggrunds niveauer og vist i procent af moderstoffets potentielle TFA-ækvivalenter. Bemærk at fluopyram har to C-CF₃-grupper, udregnes omdannelsen som mol TFA per mol fluopyram (molprocent) er omdannelsen derfor dobbelt så stor som vist i figuren.



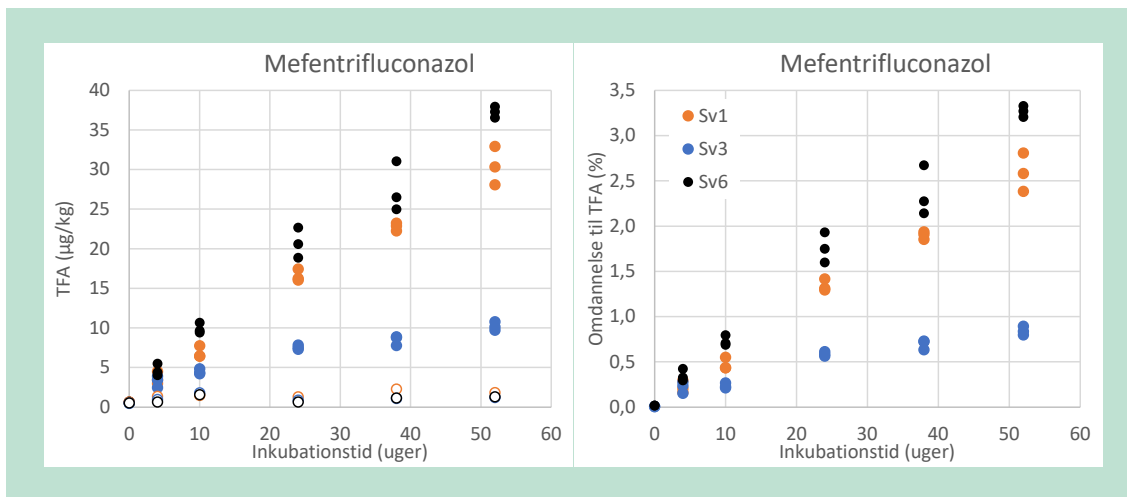
FIGUR 7. Omdannelse af fluazinam til TFA i tre økologiske landbrugsjorde (Sv1, Sv3 og Sv6). Til venstre er dannelsen vist i absolutte koncentrationer ($n=3$) med angivelse af koncentrationer i ikke-spikede kontroller (åbne symboler, $n=1$). Til højre er koncentrationer fratrukket baggrunds niveauer og vist i procent af moderstoffets potentielle TFA-ækvivalenter. Bemærk at fluazinam har to C-CF₃-grupper, udregnes omdannelsen som mol TFA per mol fluazinam (molprocent) er omdannelsen derfor dobbelt så stor som vist i figuren.



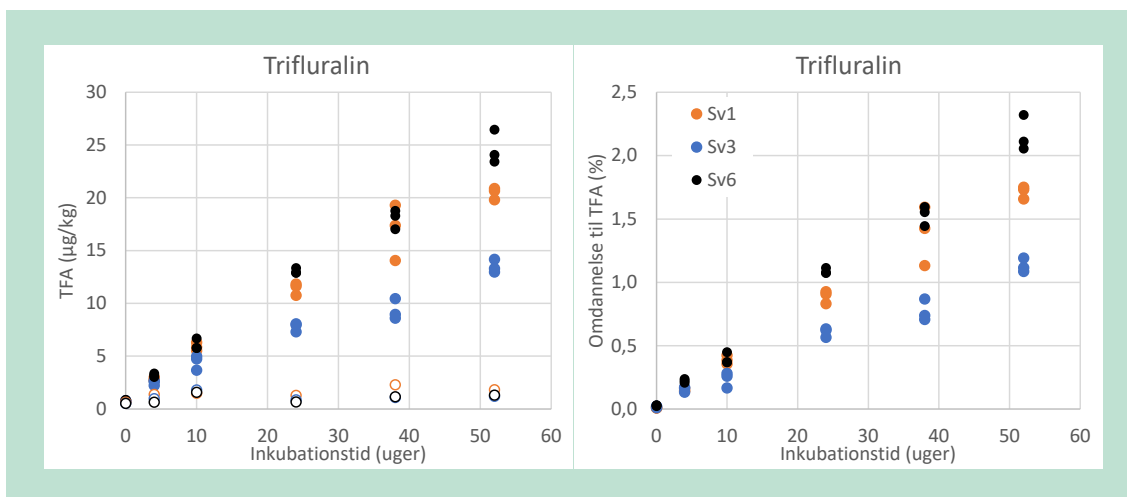
FIGUR 8. Omdannelse af diflufenican til TFA i tre økologiske landbrugsjorde (Sv1, Sv3 og Sv6). Til venstre er dannelsen vist i absolutte koncentrationer ($n=3$) med angivelse af koncentrationer i ikke-spikede kontroller (åbne symboler, $n=1$). Til højre er koncentrationer fratrukket baggrunds niveauer og vist i procent af moderstoffets potentielle TFA-ækvivalenter.



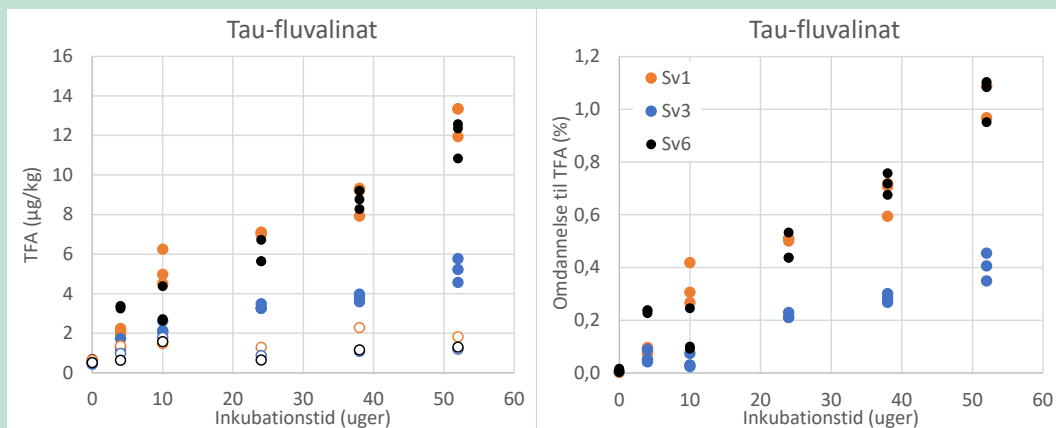
FIGUR 9. Omdannelse af fluazifop-p-butyl til TFA i tre økologiske landbrugsjorde (Sv1, Sv3 og Sv6). Til venstre er dannelsen vist i absolutte koncentrationer ($n=3$) med angivelse af koncentrationer i ikke-spikede kontroller (åbne symboler, $n=1$). Til højre er koncentrationer fratrukket baggrunds niveauer og vist i procent af moderstoffets potentielle TFA-ækvivalenter.



FIGUR 10. Omdannelse af mefentrifluconazol til TFA i tre økologiske landbrugsjorde (Sv1, Sv3 og Sv6). Til venstre er dannelsen vist i absolutte koncentrationer ($n=3$) med angivelse af koncentrationer i ikke-spikede kontroller (åbne symboler, $n=1$). Til højre er koncentrationer fratrukket baggrunds niveauer og vist i procent af moderstoffets potentielle TFA-ækvivalenter.



FIGUR 11. Omdannelse af trifluralin til TFA i tre økologiske landbrugsjorde (Sv1, Sv3 og Sv6). Til venstre er dannelsen vist i absolutte koncentrationer ($n=3$) med angivelse af koncentrationer i ikke-spikede kontroller (åbne symboler, $n=1$). Til højre er koncentrationer fratrukket baggrunds niveauer og vist i procent af moderstoffets potentielle TFA-ækvivalenter.



FIGUR 12. Omdannelse af tau-fluvalinat til TFA i tre økologiske landbrugsjorde (Sv1, Sv3 og Sv6). Til venstre er dannelsen vist i absolutte koncentrationer ($n=3$) med angivelse af koncentrationer i ikke-spikede kontroller (åbne symboler, $n=1$). Til højre er koncentrationer fratrukket baggrundsniveauer og vist i procent af moderstoffets potentielle TFA-ækvivalenter.

TABEL 7. Omdannelse af C-CF₃-pesticider til TFA i procent af moderstoffets potentielle TFA-ækvivalenter i tre økologiske landbrugsjorde (Sv1, Sv3 og Sv6) bestemt efter 52 ugers inkubation. For hvert stof er omdannelsen vist som middel ± 1 standardafvigelse ($n=3$) for hver jord, samt som geometrisk middel af de tre jorde. Fluopyram og fluazinam har to C-CF₃-grupper, udregnes omdannelsen som mol TFA per mol moderstof (molprocent) er omdannelsen derfor dobbelt så stor som vist i tabellen.

	TFA-dannelse (% af tilsat moderstof)			Geometrisk middel
	Sv1	Sv3	Sv6	
Fluopyram	7,9 \pm 0,3	3,3 \pm 0,2	10,7 \pm 0,5	6,5
Fluazinam	6,5 \pm 0,2	5,3 \pm 0,2	6,0 \pm 0,4	6,0
Diflufenican	2,9 \pm 0,8	2,4 \pm 0,1	5,2 \pm 1,1	3,3
Fluazifop-p-butyl	3,0 \pm 0,0	3,1 \pm 0,0	5,3 \pm 0,0	3,7
Trifluralin	1,7 \pm 0,0	1,1 \pm 0,1	2,2 \pm 0,1	1,6
Mefentrifluconazol	2,6 \pm 0,2	0,8 \pm 0,0	3,3 \pm 0,1	1,9
tau-Fluvalinat	1,0 \pm 0,1	0,4 \pm 0,1	1,0 \pm 0,1	0,7

TABEL 8 viser moderstoffernes restkoncentration ved forsøgets afslutning. Vi kunne kvantificere fem af moderstofferne. Trifluralin og tau-fluvalinat kunne dog ikke kvantificeres med de udviklede metoder. Det skyldes, at trifluralin gav et lavt signal på UPLC-MS'en og tau-fluvalinat viste for lav genfinding, idet stoffet sorberer meget kraftigt til organisk stof. Mefentrifluconazol var det mest stabile af de kvantificerede moderstoffer, idet 80%-87% var tilbage i jorden efter 52 uger. Fluopyram var det næstmest stabile modermoderstof med restkoncentrationer på 61%-75% efter 52 uger. Diflufenican var mindre stabilt med 26-38% tilbage efter 52 uger, og fluazinam og fluazifop-P-butyl var stort set forsvundet. Fluazifop-P-butyl viste lav genfinding i start-prøverne. Det skyldes, at butylgruppen hurtigt fraspaltes af esteraser i jorden. Reaktionsproduktet er fluazifop, hvorfor vi udvidede metoden til også at kunne kvantificere fluazifop. Restkoncentrationerne er derfor udregnet ud fra summen af fluazifop og fluazifop-P-butyl i start- og slut-prøverne. Isotopmærket mefentrifluconazol (mefentrifluconazol-d4) blev anvendt som intern standard til korrektion af matrixeffekter for alle stoffer. Dette er tilstrækkeligt, når rest-koncentrationen angives i forhold til startkoncentrationen (C/C_0) i stedet for i absolutte

koncentrationer. Det formodes, at TFA ville kunne dannes fra moderstoffernes restkoncentration, hvis forsøget havde forløbet over længere tid. Noget moderstof må dog forventes at blive refraktært pga. ældning i jorden, hvor stoffet i stigende grad bindes, så det bliver mindre nedbrydeligt. Derudover vil TFA sandsynligvis også kunne dannes udover første år fra diverse C-CF₃ mellemprodukter, der kan være akkumuleret i jorden. Dette er specielt sandsynligt for fluazinam og fluazifop, hvor det meste moderstof forsvandt, og til dels for diflufenican, hvor 26-38% var tilbage ved forsøgets afslutning, men hvor TFA-dannelserne ikke var fladet ud ved forsøgets afslutning (FIGUR 7, FIGUR 8 og FIGUR 9),

TABEL 8. Andel rest-moderstof (C/C₀) ved forsøgets afslutning efter 52 ugers inkubation.

	Rest moderstof (C/C ₀ i %)		
	Sv1	Sv3	Sv6
Fluopyram	61±13	75±11	70±2
Fluazinam	2±0	6±1	3±0
Diflufenican	26±5	38±7	28±6
Fluazifop + fluazifop-p-butyl	0±0	1±0	0±0
Mefentrifluconazol	81±1	87±1	80±1

5. Overslag over udvaskning af TFA fra C-CF₃-pesticider

I det følgende gives overslagsberegninger for mulige årlige TFA-middelkoncentrationer i vandet, der forlader pløjelaget efter sprøjtning med C-CF₃ pesticider. Overslagene skal give en indikation af, hvilke niveauer man kan forvente i grundvandet efter sprøjtning, men er i øvrigt meget usikre og skal ikke opfattes som risikovurderinger af de enkelte stoffer. Overslagene er baseret på de procentvise omdannelser af moderstof til TFA bestemt i projektets hovedforsøg efter ét års inkubation og udregnet som geometrisk middelværdi for de tre jorde (TABEL 7). I overslagene bruges geometriske middelværdier som anbefalet i FOCUS guidelinen: "Where there are a number of experimental values (e.g. degradation rate, sorption constants etc.) then the mean or median (as estimated by a geometric mean) values should generally be used rather than the extreme value" (FOCUS, 2014).

Som i Miljøstyrelsens godkendelsesordning baseres beregningerne på den del af markdosis, der afsættes direkte på jorden. Den direkte afsætning af sprøjtemiddel på jordoverfladen afhænger af en række faktorer, hvor de vigtigste er afgrøde og afgrødens vækststadium, men derudover påvirkes afsætningen også af dråbestørrelse, midlets specifikke formulering mm. (Jensen og Spliid, 2003).

I pesticidgodkendelserne bruger Miljøstyrelsen danske værdier for pesticidafsætningen af sprøjtevæske på jordoverfladen i afgrødernes forskellige vækststadier, hvor Miljøstyrelsen anvender det øvre 80 procent konfidensinterval i modelberegningerne (Miljøstyrelsen, 2019; TABEL 9 og TABEL 10). Hvis der ikke findes danske måleværdier for afsætningen, bruger Miljøstyrelsen i stedet værdier baseret på plantedækningsestimater (Miljøstyrelsen, 2019), det er fx for vinterraps og vårraps (TABEL 11), hvor afsætningen angives som et interval. I dette tilfælde bruger vi middel af intervallet i overslagsberegningen. For raps er der ikke afsætningsdata for alle typer pesticider for alle vækststadier. Her har vi brugt data for de tilgængelige vækststadier uanset om der er tale om herbicider, fungicider eller insekticider. De beregnede overslag tager udgangspunkt i højest anvendte markdosis og beregnes for BBCH-vækststadier, hvor stoffet er/var tilladt, og hvor der findes data for pesticidafsætningen på jorden.

TABEL 9. Afsætning af sprøjtevæske på jordoverfladen (% for øvre 80-% konfidensinterval) i vinterkorns og vårkorns forskellige vækststadier (BBCH) som beskrevet af Miljøstyrelsen (2019).

Vinterkorn (hvede, byg, rug) BBCH	Afsætning i %	Vårkorn (hvede, byg) BBCH	Afsætning i %
11-13	77	11-13	75
23-28	60	20-24	55
30-32	42	28-32	43
33-34	21	33-35	27
38-45	10	49-50	18
51-57	4	59-68	20
61-71	4	87-89	23
87	18		

TABEL 10. Afsætning af sprøjtevæske på jordoverfladen (% for øvre 80-% konfidensinterval) i sukkerroers og kartoflers forskellige vækststadier (BBCH) som beskrevet af Miljøstyrelsen (2019).

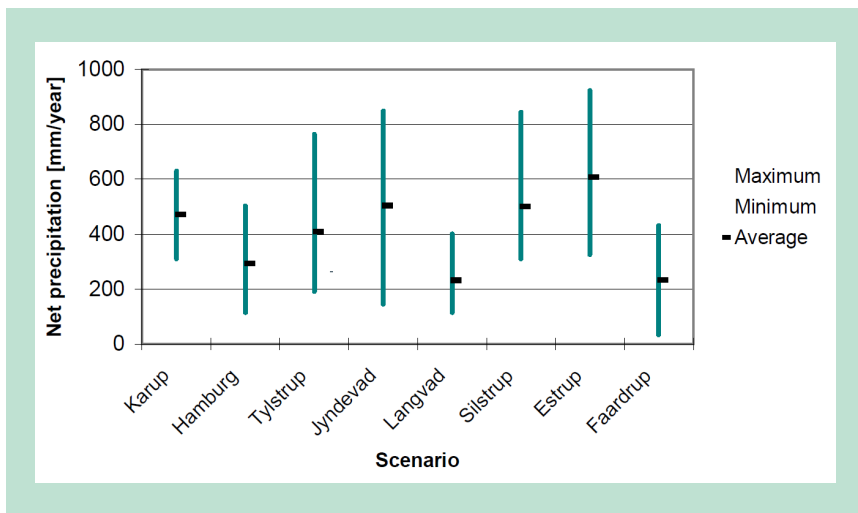
Sukkerroe BBCH	Afsætning i %	Kartofler BBCH	Afsætning i %
11-12	100	10-19	100
13-14	100	18-25	97
15-18	98	30-32	91
20-22	81	35-40	55
30-35	47	59-79	8
39	32		

TABEL 11. Afsætning af sprøjtevæske på jordoverfladen) i vinterraps' og vårraps' forskellige vækststadier (BBCH) baseret på plantedække som beskrevet af Miljøstyrelsen (2019).

	Behandling	BBCH	Afsætning i %
Vinterraps	Herbicide	0	100
	Efterårsherbicide	13	62-81
	Forårsherbicide	16	24-43
	Insekticide	60-69	5-15
Vårraps	Herbicide	13	62-81
	Herbicide	30-59	43-62
	Insekticide	60-69	5-15

De årlige TFA middelkoncentrationer er estimeret ud fra en årlig nettonedbør på 300 mm, der er standard i Hamborg-scenariet, som anvendes i pesticidgodkendelsen. Nettonedbøren varierer dog betydeligt fra år til år og fra landsdel til landsdel (FIGUR 13). Områder og år med større eller mindre nettonedbør vil naturligvis have tilsvarende lavere eller højere TFA koncentrationsestimater. I beregningerne er det forudsat, at TFA hverken binder eller nedbrydes i jorden.

Ifølge FOCUS guidelinen (FOCUS, 2014) og efter ønske fra Miljøstyrelsen er nedbrydningsforsøgene udført ved 20°C, dette er dog urealistisk højt for markforhold. DMI beskriver at: "Den gennemsnitlige årstemperatur for landet som helhed er 8,3°C (30 års gennemsnit 1981-2010). 1991-2020 gennemsnittet er 8,7°C og 10 års gennemsnittet 2011-2020 er 9,1°C." (DMI, 2024). Den faktiske årlige middeltemperatur i markernes øverste jordlag kendes ikke, men må forventes at være højere end luftens temperatur. I beregningerne har vi arbitrært valgt en årlig middeltemperatur på 10°C for det øverste jordlag, men temperaturen vil selvfølgelig variere afhængig af årstiden, solindstrålingen i de forskellige landsdele, varierende skygning fra afgrøderne i deres forskellige vækststadier, varierende fordampning osv. Ved en reduktion fra 20°C til 10°C reduceres pesticidstoffers reaktionshastighed typisk med faktor 2,58 (FOCUS, 2014), også kaldet pesticidstoffernes Q₁₀. Da TFA-dannelserne i laboratorieforsøget var tilnærmelsesvis lineære (FIGUR 6 til FIGUR 12), har vi derfor divideret TFA-dannelsen i TABEL 7 med 2,58 for tilnærmelsesvist at kompensere for lavere in-situ temperatur. For ikke-lineære dannelseskurver giver det en mindre underestimering.



FIGUR 13. Nettonedbør for marker beliggende forskellige steder i Danmark sammenlignet med Hamborg-scenariet. Nettonedbøren er angivet som årlig middelværdi, maksimum og minimum i en 20-års periode. Karup og Langvad har tidligere indgået i Miljøstyrelsens modelberegninger. Tylstrup, Jydevad, Silstrup, Estrup og Faarstrup er marker i Varslingsystem for Udvaskning af Pesticider til Grundvandet (VAP). Figuren er oprindeligt vist i Barlebo et. al. (2007).

5.1.1 Fluopyram

Den højeste omdannelse til TFA ses for fluopyram med en omdannelse på 6,5% af tilsat mængde i løbet af 52 uger (geometrisk middel, TABEL 7). Da fluopyram har to TFA-grupper per fluopyram-molekyle er TFA:fluopyram molprocenten på 13% ved 20°C.

Fluopyram er et bredspektret fungicid, der anvendes i forskellige afgrøder. Ifølge bekæmpelsesmiddeldatabasen (per 11/4-2023) er der to godkendte produkter med fluopyram, Propulse SE250 og PRO-Tector, der begge indeholder fungiciderne fluopyram (125 g/L) og prothioco-nazol (125 g/L). Midlerne kan anvendes én til to gange per sæson med en maksimal sæson-dosis på 1,0 L/ha for korn, raps og majs, og 0,9 L/ha for kartofler. Afhængig af afgrøde er midlerne godkendt til forskellige vækststadier (BBCH-stadier, TABEL 12). TABEL 13 viser overslag over mulig TFA-udvaskning efter sprøjtning med Propulse SE250 eller PRO-tector i én sæson-dosis. For raps er anvendt interception for insekticid i BBCH 59-68, da der ikke er interceptionsdata for fungicider. Interceptionen er den samme for vinter- og vårraps. Pesticidstoffernes generelle kravværdi på 0,1 µg/L er overskredet i de tidlige vækststadier, for vårkorn også ved sprøjtning i de sene vækststadier.

TABEL 12. Anvendelse af Propulse SE 250 og PRO-Tector ifølge godkendelsesindehavernes brugsanvisninger (Bayer, 2020; Vestjysk Agro, 2023).

Afgrøde	Vækststadie BBCH	Maks. dosis per sæson L/ha
Hvede, byg, havre, rug, triticale	30-61	1,0
Raps	57-69	1,0
Majs	33-69	1,0
Kartofler	40-89	0,9

TABEL 13. Overslag over TFA-udvaskning efter sprøjtning med fluopyram i én sæson-dosis. Overslag over årlig middelkoncentration i vandet, der nedsiver fra pløjelaget, for afgrøder og vækststadier hvor der ifølge produktbrugsanvisningerne kan sprøjtes med Propulse SE 250 eller PRO-Tector. I beregningerne antages afsætning af sprøjtevæske på jordoverfladen ifølge Miljøstyrelsen, en omdannelse til TFA ved en middeltemperatur på 10°C og nettonedbør på 300 mm/år.

TFA, årlig middelkoncentration (µg/L)				
Vinterkorn	Vårkorn	Kartofler	Raps	
BBCH 30-32: 0,25	BBCH 30-32: 0,26	BBCH 40: 0,30	BBCH 60-69: 0,06	
BBCH 33-34: 0,13	BBCH 33-35: 0,16	BBCH 59-79: 0,04		
BBCH 38-45: 0,06	BBCH 49-50: 0,11			
BBCH 51-57: 0,02	BBCH 59-61: 0,12			

5.1.2 Fluazinam

Fluazinam er et bredspektret fungicid, der anvendes mod jordbårne patogener (PPDB). Ligesom fluopyram, har fluazinam to C-CF₃-grupper per molekyle. Produkterne er godkendt til brug i kartofler, og for nogle produkter også i løg. Der findes flere tilladte produkter med ens maks. dosis per sprøjtning. I det følgende gives overslag for produktet FROWNCIDE brugt i kartofler. Frowncide indeholder 500 g/L aktivstof og doseringen er 0,3-0,4 l/ha per sprøjtning. I beregningen antages en dosis på 0,4 l/ha per sprøjtning. Produktbrugsanvisningen angiver følgende: "FROWNCIDE skal anvendes forebyggende. Første sprøjtning udføres inden udsigt til skimmelfavorabelt vejr. Maksimalt 7 dages interval under skimmelfavorable forhold.....Max 10 behandlinger pr sæson". Frowncide kan bruges til BBCH 32-91. Overslagene over årlig TFA middelkoncentration i vandet, der forlader pløjelaget, ligger i BBCH 30-40 betydeligt over pesticidstoffernes kravværdi på 0,1 µg/L (TABEL 14) for enkeltsprøjtninger. Ved 10 sprøjtninger per sæson afhænger estimatet i høj grad af, hvilke vækststadier der sprøjtes, jo tidligere, jo højere estimat. I estimatet i TABEL 14 antages 7 sprøjtninger i BBCH 59-79, 3 sprøjtninger i BBCH 35-40 og at der ikke sprøjtes i BBCH 30-32. Fordelingen skyldes stigende risiko for skimmel i løbet af sæsonen, men er derudover arbitrært fastsat. Disse 10 sprøjtninger giver et årligt TFA middelestimat på 1,68 µg/l, men estimatet ville have været betydeligt højere, hvis der var tidligere sprøjtninger. Ifølge produktbrugsanvisningerne for tilsvarende produkter anbefales brug af disse typisk op til 4-5 gange pr sæson.

TABEL 14. Overslag over TFA-udvaskning efter sprøjtning med fluazinam som enkelt-sprøjtning eller ved 10 sprøjtninger. Overslag over årlig middelkoncentration i vandet, der nedsiver fra pløjelaget, for afgrøder og vækststadier hvor der ifølge produktbrugsanvisningerne kan sprøjtes med FROWNCIDE eller lignende produkter I beregningerne antages afsætning af sprøjtevæske på jordoverfladen ifølge Miljøstyrelsen, en omdannelse til TFA ved en middeltemperatur på 10°C og nettonedbør på 300 mm/år.

TFA, årlig middelkoncentration (µg/l)	
Kartofler	
BBCH 32:	0,69
BBCH 35-40:	0,42
BBCH 59-79:	0,06
10 sprøjtninger*	1,68

*3 sprøjtninger i BBCH 35-40 og 7 sprøjtninger i BBCH59-79

5.1.3 Diflufenican

Diflufenican virker primært som et jordmiddel, der lægger sig som en tynd film på jordoverfladen og forhindrer fremspiringen af nyt ukrudt. I det følgende gives overslag for produktet Diflanil 500 SC, der indeholder 500 g/L aktivstof, hvilket svarer til højest anvendte markdosis (TABEL 6). Produktbrugsanvisningen angiver at: "Diflanil SC er velegnet til efterårsfremspirende bredbladede ukrudtsarter i vårbyg og vårhvede". Produktet må anvendes 1 gang pr. vækstår (TABEL 15). I beregningen antages maks dosis per sæson for de forskellige BBCH. Der mangler interceptionsdata for BBCH 14-16 for vinterkorn. For BBCH 00 antages at alt sprøjtemiddel afsættes på jorden. Overslagene over årlig TFA middelkoncentration i vandet, der forlader pløjelaget, ligger under pesticidstoffernes kravværdi på 0,1 µg/L (TABEL 16) bortset fra vinterkorn i BBCH 13. Udover anvendelse i korn, kan midlet også anvendes i æble- og pæreplantager i højere årlige doser.

TABEL 15. Anvendelse af Diflanil 500 SC ifølge godkendelsesindehaverens brugsanvisning. Der er ikke opgivet dosis for vårbyg for BBCH 15-19.

Afgrøde	Vækststadie BBCH	Maks. dosis per sæson L/ha
Vinterhvede, vinterbyg, vinterrug, vintertriticale	00-12	0,06-0,12
	13-14	0,12-0,25
	14-16	0,12-0,25
Vårbyg og vårhvede	00-14	0,06-0,15
	20-28	0,15
Æbler og pærer	40-89	0,6

TABEL 16. Overslag over TFA-udvaskning efter sprøjtning med diflufenican i maks. dosis. Overslag over årlig middelkoncentration i vandet, der nedsiver fra pløjelaget, for afgrøder og vækststadier hvor der ifølge produktbrugsanvisningerne kan sprøjtes Diflanil 500 SC. I beregningerne antages afsætning af sprøjtevæske på jordoverfladen ifølge Miljøstyrelsen, en omdannelse til TFA ved en middeltemperatur på 10°C og nettonedbør på 300 mm/år.

TFA, årlig middelkoncentration (µg/L)			
Vinterkorn		Vårkorn	
BBCH 00:	0,07	BBCH 00:	0,09
BBCH 11-12:	0,06	BBCH 11-13:	0,07
BBCH 13:	0,12	BBCH 20-24:	0,05

5.1.4 Fluazifop-P-butyl

Fluazifop-P-butyl er et herbicid mod græsser i tokimbladede afgrøder (PPDB). Produkter med fluazifop og fluazifop-P-butyl er alle ældre produkter. Der findes ikke længere godkendte produkter. TFA-estimatet tager udgangspunkt i produktet LFS-Fluazifop-P-butyl som har haft høj dosis (TABEL 6). Højeste dosis er på 3,0 L/ha som anbefales, hvor der er meget stor mængde kvik eller når kvikken har mere end 3-5 blade i roer, ærter, raps, kartofler og frøafgrøder. Ved mindre kvik-mængder bruges 1,5-2 L/ha. LFS-Fluazifop-P-butyl indeholder 125 g/L aktivstof. Afgrødernes BBCH er ikke oplyst i brugsanvisningen. De estimerede TFA middelkoncentrationer er i næsten alle tilfælde betydeligt over pesticidstoffernes kravværdi på 0,1 µg/L (TABEL 17). Ved mindre mængder kvik var dosis, og dermed også TFA-estimatet, ned til halvt så stort.

TABEL 17. Mulig TFA-udvaskning efter én sprøjtning med fluazifop-P-butyl i maks. dosis. Overslag over årlig middelkoncentration i vandet, der nedsiver fra pløjelaget. I beregningerne antages afsætning af sprøjtevæske på jordoverfladen ifølge Miljøstyrelsen, en omdannelse til TFA ved en middeltemperatur på 10°C og nettonedbør på 300 mm/år.

TFA, årlig middelkoncentration (µg/l)				
Kartofler	Sukkerroe	Vinterraps	Vårrops	
BBCH 10-19: 0,53	BBCH 11-12: 0,53	BBCH 13: 0,38	BBCH 13: 0,38	
BBCH 18-25: 0,52	BBCH 13-14: 0,53	BBCH 16: 0,18	BBCH 30-59: 0,28	
BBCH 30-32: 0,49	BBCH 15-18: 0,52	BBCH 60-69: 0,05	BBCH 60-69: 0,05	
BBCH 35-40: 0,29	BBCH 20-22: 0,43			
BBCH 59-79: 0,04	BBCH 30-35: 0,25			
	BBCH 39: 0,17			

5.1.5 Trifluralin

Trifluralin er et ældre og nu forbudt herbicid til anvendelse før fremspiring, og man må formode, at stort set alt anvendt trifluralin derfor endte i jordmiljøet, altså at tilbageholdelsen på bladene var ubetydelig. I bekæmpelsesmiddeldatabasen har trifluralinprodukterne ikke brugsanvisninger tilknyttet, det er derfor svært at vurdere hvad dosis var. I SEGES' Middeldatabase angives for grøntsager og raps (vinter/vår) en dosis på 859 g/ha (~ 1 BI) for alle tidligere tilladte, rene trifluralin-produkter. TFA-estimatet tager udgangspunkt i én sprøjtning før fremspiring med denne dosis. Estimatet for TFA i vandet, der forlader pløjelaget, er på 0,60 µg/L ved en dosis på 859 g aktivstof pr. hektar. Estimatet er betydeligt over pesticidstoffernes kravværdi på 0,1 µg/L.

Det skal dog nævnes, at vi på nettet har fundet en dansk brugsanvisning for produktet TREFLAN (Dow AgroSciences), hvor trifluralin var eneste aktivstof og hvor dosis var fra 480 g/ha. For TREFLAN er TFA-estimatet i vandet fra pløjelaget noget lavere, nemlig 0,34 µg/L. TREFLAN blev i øvrigt nedharvet til 4-6 cm dybde straks efter udbringning, der kan have været samme praksis for de øvrige produkter.

5.1.6 Mefentrifluconazol

Midler med fungicidet mefentrifluconazol er oftest kun godkendt til anvendelse i korn. Et enkelt middel, Revona, er godkendt til vinterraps og frugttræer. Midlerne har typisk en maksimal sæsondosis på 150 g/ha. TFA-estimatet tager udgangspunkt i produktet Balaya (TABEL 18), der indeholder 100 g/L mefentrifluconazol. De estimerede TFA middelkoncentrationer for anvendelse af maks. dosis er lave (TABEL 19) og overskrider ikke pesticidstoffernes kravværdi på 0,1 µg/L.

TABEL 18. Anvendelse af Balaya ifølge godkendelsesindehaverens brugsanvisning. Dosis er for udsæd, der ikke er bejdset med triazolfungicid.

Afgrøde	Vækststadiet BBCH	Maks. dosis per sæson L/ha
Vinterkorn	33-37	0,75-1,0
	38-40	0,75-1,5
Vårkorn	33-37	0,75-1,0
	38-40	0,75-1,5

TABEL 19. Mulig TFA-udvaskning efter sprøjtning med Balaya i maks. sæson-dosis. Overslag over årlig middelkoncentration i vandet, der nedsiver fra pløjelaget. I beregningerne antages afsætning af sprøjtevæske på jordoverfladen ifølge Miljøstyrelsen, en omdannelse til TFA ved en middeltemperatur på 10°C og nettonedbør på 300 mm/år.

TFA, årlig middelkoncentration (µg/L)	
Vinterkorn	Vårkorn
BBCH 33-34: 0,01	BBCH 33-35: 0,02
BBCH 38-40: 0,01	

5.1.7 tau-Fluvalinat

tau-Fluvalinat er et pesticid mod skaldevoldende insekter i korn, raps, ærter, kartofler, bønner, kål og juletræer, som stadigvæk anvendes. Godkendte afgrøder varierer lidt mellem produkterne. Dosis for det ældre middel Agro Bizz Tau – Flu 2F var lidt højere end for de øvrige produkter ved en enkelt sprøjtning. Vi har dog i stedet valgt det udgåede produkt Mavrik 2F, idet brugsanvisningen her angiver BBCH og antal sprøjtninger. Mavrik 2F indeholdt 240 g/L aktivstof. TABEL 20 viser udvalgte anvendelser. TFA middelkoncentrationer er lave og overskrider ikke pesticidstoffernes kravværdi på 0,1 µg/L (TABEL 21).

TABEL 20. Udvalgte anvendelser af Mavrik 2F ifølge godkendelsesindehaverens brugsanvisning.

Afgrøde	Skadegørere	BBCH	Dosering, L/ha	Behandlinger	Dage mellem behandlinger
Vintersæd og vårsæd	Bladlus	31-75	0,15-0,2	1-2	10-14
Raps	Glimmerbøsser mm.	30-71	0,2	1-2	7-21
Kartofler	Bladlus	12-49	0,1-0,2	1-2	14

TABEL 21. Mulig TFA-udvaskning efter dobbelt-sprøjtning med Mavrik 2F i maks. dosis for udvalgte anvendelser. Overslag over årlig middelkoncentration i vandet, der nedsiver fra pløjelaget. I beregningerne antages afsætning af sprøjtevæske på jordoverfladen ifølge Miljøstyrelsen, en omdannelse til TFA ved en middeltemperatur på 10°C og nettonedbør på 300 mm/år.

TFA, årlig middelkoncentration (µg/L)			
Vinterkorn bladlus	Vårkorn bladlus	Vårraps glimmerbøsser	Kartofler bladlus
BBCH 31-32: 0,01	BBCH 31-35: 0,01	BBCH 30-59: 0,01	BBCH 12-32: 0,02
BBCH 33-71 : <0,01	BBCH 49-71: <0,01	BBCH 60-69: <0,01	BBCH 35-40: 0,01

6. Samlet diskussion

Der er foreslået to overordnede nedbrydningsveje for C-CF₃ pesticider. I den ene hydroxyleres molekylet af mikrobielle dioxygenaser, hvorefter der sker en frigivelse af fluorid. Man kan derfor i princippet forestille sig, at C-CF₃ pesticiderne nedbrydes fuldstændig uden dannelse af TFA som beskrevet for det simple stof benzotrifluorid (Wackett, 2022). Men pesticiderne er komplekse molekyler med substituenten og store reaktive sidegrupper, der kan reagere i stedet for CF₃-gruppen. Man kan derfor også forestille sig, at pesticid-molekylet gradvist nedbrydes, indtil der kun er TFA tilbage som den sidste, persistente rest.

Ved projektets start var omdannelse til TFA i jord kun erkendt for to pesticid aktivstoffer (Miljøministeriet, 2021). Der var dog indicier, som understøttede en formodning om, at TFA-dannelse fra C-CF₃ pesticider er mere almindelig end først antaget. Dels omdannes en række aktivstoffer ifølge EFSA (2014) til TFA i metabolismestudier (TABEL 2), dels har EU's referencelaboratorium for pesticidrester undersøgt forekomsten af TFA i frugt og grønt fra konventionelt jordbrug og fra økologisk jordbrug (EU Reference Laboratories for Residues of Pesticides, 2017) og fandt, at høj TFA-forekomst i grøntsager var koblet med konventionelt jordbrug.

Efterfølgende har det vist sig, at der fandtes data for flere pesticidstoffers omdannelse til TFA. Ifølge Bayer kan fluopyram omdannes til TFA i jord (Bayer CropScience, 2021), fluopyram er tilladt som sprøjtemiddel i Danmark. I vores litteraturgennemgang, har vi desuden erfaret, at herbicidet haloxyfop også kan omdannes til TFA i jorden (EFSA, 2009), hvilket med stor sandsynlighed også gælder haloxyfops moderstof haloxyfop-ethoxyethyl, der har været tilladt som sprøjtemiddel i Danmark i perioden 1992-2007. Derudover har en tysk pesticidarbejdsgruppe oplyst, at yderligere seks pesticidaktivstoffer (heraf nogle anonymiseret) kan omdannes til TFA i jord (TABEL 1).

Inspireret af et forsøg, der viste TFA- og fluorid-dannelse fra medicinstoffet fluoxetin i korttidsforsøg under optimerede forhold, forsøgte vi indledningsvis at udvikle en metode til hurtig screening af TFA-dannelse fra pesticider eksponeret for landbrugsjordes mikrobielle samfund. Det lykkedes ikke. Det kan blandt andet skyldes, at nogle af de valgte pesticider kan ændre og sænke den mikrobielle aktivitet, når de tilsættes i høj koncentration. Helt oplagt kan fungiciderne nedsætte svampenes aktivitet, men andre stoffer kan også have effekter på jorden mikroorganismer, fx herbiciderne trifluralin (Du et al., 2018; Li et al., 2022) og fluazifop-P-butyl (Darine et al., 2015), der påvirker sammensætningen af de mikrobielle samfund og deres funktioner.

For mere retvisende resultater, måtte vi derfor udføre længere laboratorieforsøg under mere realistiske betingelser. Dette gjorde vi i vores andet laboratorieforsøg, hvor TFA-dannelsen blev fulgt over ét år i landbrugsjord. Alle syv testede C-CF₃ pesticider blev omdannet til TFA, men TFA-dannelsen varierede både fra stof til stof og fra jord til jord. Fluopyram havde den største TFA-dannelse på 10,7%±0,4% af det tilsatte moderstof i Sv6-jorden, men mindre dannelse i Sv1 (7,9%±0,3%) og betydeligt mindre dannelse i Sv3 (3,3%±0,2%). Fluazinam havde også stor TFA-dannelse, men i modsætning til fluopyram var der kun beskedne forskelle mellem jordene. TFA-dannelsen var lavere for de øvrige stoffer med 2,4%-5,2% for diflufenican, 3,0%-5,3% for fluazifop-P-butyl, 1,1%-2,2% for trifluralin, 0,8%-3,3% for mefentrifluconazol og 0,4%-1,1% for tau-fluvalinat. Potentialet for TFA-dannelsen undervurderes dog, når man sætter TFA-dannelsen i forhold til den tilsatte moderstofkoncentration, hvis en stor del af moderstoffet eller mellemprodukter er tilbage ved forsøgets afslutning. Vi kunne kvantificere fem af moderstofferne. Mefentrifluconazol var det mest stabile af de kvantificerede moderstoffer, idet 80%-87% var tilbage i jorden efter 52 uger. Fluopyram havde restkoncentrationer på 61%-

75%, diflufenican havde restkoncentrationer på 26-38%, hvorimod fluazinam og fluazifop-P-butyl/fluazifop var stort set forsvundet.

TFA-dannelsen blev brugt til at beregne overslag over mulig udvaskning af TFA fra sprøjtede marker i løbet af et år efter sprøjtningen. Estimerne for de årlige TFA middeldkoncentrationer i vandet, der forlader pløjelaget, varierede for forskellige afgrøder og sprøjtning i forskellige vækststadier. Mefentrifluconazol og tau-fluvalinat gav lave estimater langt under pesticidstoffernes kravværdi på 0,1 µg/L, sandsynligvis fordi disse stoffer binder kraftigt til jordens organiske stof og derfor omdannes langsomt til TFA i vores forsøg. Derudover er tau-fluvalinats dosis også betydeligt lavere end de øvrige pesticider (TABEL 6), hvilket også bidrager til lave estimater. Diflufenican gav estimater på 0,05-0,12 µg/L på trods af stoffets store sorption. Fluopyram, fluazinam, fluazifop-P-butyl og trifluralin gav alle høje estimater >0,1 µg/L for mange scenarier. De høje estimater skyldes grundlæggende TFA's høje persistens, en egenskab der afviger fra de fleste andre pesticidnedbrydningsprodukter, som i varierende grad nedbrydes inden de forlader pløjelaget. Det skal bemærkes, at de estimerede koncentrationer i alle tilfælde, er langt under drikkevandsbekendtgørelsens sundhedsbaserede kvalitetskrav på 9 µg/L.

Overslagskoncentrationerne er behæftede med stor usikkerhed. Det vides ikke, hvor længe, der vil være omdannelse i jorden af C-CF₃ pesticiderne og deres metabolitter til TFA udover nedbrydningsforsøgets varighed på 52 uger, dvs. hvor meget større TFA-dannelsen ville være, hvis forsøgene havde forløbet over flere år. Dannelseskurvernes forløb indikerer, at TFA-dannelsen for de fleste af stofferne vil forløbe udover det første år, hvilket støttes af høje restkoncentrationer for nogle af moderstofferne. En sådan langvarig TFA-udvaskning efter sprøjtning er fx påvist i lysimeterforsøg med haloxyfop, hvor TFA udvaskede i næsten ens koncentrationer både første og andet år efter sprøjtning (EFSA, 2009).

Overslagene tager heller ikke højde for, at noget af det pesticid, der afsættes på afgrøden (op til ca. 90%) måske alligevel ender i jorden, hvis pesticidet eller omdannelsesprodukter afvaskes af dug eller regn. Dette vil i nogle tilfælde kunne øge TFA-bidraget betragteligt. For systemiske pesticider, fx fluopyram, er det sandsynligt, at de eller deres metabolitter translokteres til alle plantedele, hvorfor stubbe og rødder, der formulder i jorden, vil kunne bidrage med TFA. Ukrudtets optag af C-CF₃ herbicider og deres metabolitter kan også ende i jordmiljøet, når de sprøjtede ukrudtsplanter visner. Kartoffler er et særligt tilfælde, idet toppene nedvisnes før høst, hvorfor toppenes indhold af C-CF₃ pesticider eller deres C-CF₃ metabolitter må formodes at ende i jordmiljøet. Det er sandsynligt, at alt dette bidrager til TFA-dannelse og udvaskning, omfanget er dog ukendt.

Endelig kan noget TFA forsvinde fra jordmiljøet via afgrødens optag af TFA opløst i jordvandet (Zhang et al., 2019). En del af dette TFA fjernes fra marken ved høst, men noget må formodes at ende i jorden igen ved formuldring af de tilbageværende plantedele og udbringning af staldgødning med strøelse. Hvor meget TFA, der optages fra jordvandet og akkumuleres i planterne, og hvor meget af dette TFA der returneres til jordmiljøet, er også ukendt. Overslagene tager heller ikke højde for, at der samme år kan være brugt andre pesticider med C-CF₃ grupper, som vil kunne øge grundvandets TFA-koncentration.

Man kan også diskutere om batch-forsøg, der forløber over ét år, er tilstrækkelig realistiske. Man risikerer let, at de mikrobielle processer går i stå i de senere stadier af forsøget, fordi jorden i stigende grad afviger fra den tilsvarende jord in-situ i pløjelaget, der løbende modtager organisk kulstof fra planterne, nedbrydning af mikrogradienter i jorden ved nedbør og vanding, homogenisering af jorden ved harvning osv. Det betyder, at omdannelsen til TFA, og dermed også udvaskningsestimaterne, sandsynligvis underestimeres ved langvarige laboratorieforsøg. Faldende TFA-dannelsesrater over tid for nogle af stofferne kan være udtryk for, at reaktionen

tilnærmelsesvis følger 1. ordens kinetik, det kunne fx være tilfældet for fluazinam, hvor det meste moderstof forsvinder i løbet af forsøget. 1.-ordens kinetik forudsætter dog, at det mikrobielle potentiale for moderstoffets nedbrydning og TFA-dannelsen er konstant over hele forsøgets længde, hvilket er usandsynligt som beskrevet ovenfor.

I beregningen af TFA-estimerne antages en middeltemperatur på 10°C i det øverste jordlag i marken og reaktionsraterne (TFA dannet per år) bestemt ved 20°C reduceres derfor med en faktor på 2,58 som er FOCUS-gruppens anbefalede Q_{10} -værdi (FOCUS, 2014). Disse antagelser er usikre, idet de faktiske jordtemperaturer i de øverste jordlag efter sprøjtning er ukendte og idet Q_{10} varierer fra stof til stof, den oprindelige anbefaling var fx på 2,2 (FOCUS 2007). Derudover kan sorberendes stoffers nedbrydning i højere grad være styret af biotilgængelighed end af temperatur, så anvendelsen af Q_{10} underestimerer TFA-koncentrationerne. Dette kunne fx være tilfældet for det kraftigt sorberende pesticid tau-fluvalinat og måske også for diflufenican og mefentrifluconazol. Og endelig vil in-situ dannelsen af TFA også afhænge af jordens vandindhold, idet mikrobielle processer i marken går i stå, når jorden udtørres. De fleste usikkerheder og fejlkilder er ikke specifikke for vores forsøg, men derimod generelle fejlkilder for denne type batch-forsøg og dermed også for modelleringen i godkendelsesordningen, som er afhængig af data fra batch-forsøg.

De seneste, danske felt-målinger viser TFA-koncentrationer fra ca. 0,2 µg/L op til ca. 0,5 µg/L i ungt grundvand under skovområder uden landbrugspåvirkning, og op til ca. 1,6 µg/L i ungt grundvand under landbrugsarealer (Albers og Sültenfuss, 2024). Overslagene over pesticidernes årlige TFA-middelkoncentrationer i det nedsivende vand ligger på niveau med den atmosfæriske baggrund for fire af de syv testede pesticider og er lavere for de tre øvrige testede pesticider. Her skal man dog bemærke, at overslagene kun dækker TFA fra den direkte afsætning af pesticid på jordoverfladen. Hvis blot en lille del af det resterende pesticid nedvaskes fra planterne til jorden, eller på anden vis omdannes til TFA, vil de årlige middelkoncentrationer sandsynligvis være højere end estimerne. Overslagene dækker desuden kun et enkelt års sprøjtning og tager ikke højde for tilbageværende moderstof eller mellemprodukter fra tidligere års sprøjtninger. Vores data indikerer med høj sandsynlighed, at der for de syv testede pesticider, fortsat vil være TFA-dannelse efter ét års inkubation.

6.1 Konklusion

Ved projektets start var kun flufenacet og flurtamon erkendt som pesticidkilder til TFA (Miljøministeriet, 2021). Litteraturgennemgangen viste, at fluopyram, tritosulfuron, metaflumizone, haloxyfop og fire anonymiserede aktivstoffer også kan omdannes til TFA i jord (>5% omdannelse). Ud fra vores laboratorieforsøg kan vi nu også konkludere, at samtlige syv testede C-CF₃ pesticider (fluopyram, diflufenican, trifluralin, fluazifop-P-butyl, fluazinam, tau-fluvalinat og mefentrifluconazol) kan omdannes til TFA i jord, men også at dannelsesraterne varierer meget fra stof til stof og at omdannelsen til TFA sandsynligvis vil fortsætte i mere end ét år. Overslagsberegninger for den årlige TFA-koncentration i vandet, der forlader pløjelaget efter sprøjtning, er behæftede med store usikkerheder, men viser, at den årlige TFA middelkoncentration for flere dyrkningsscenarier sandsynligvis vil overskride 0,1 µg/L. Der bør derfor foretages egentlige risikovurderinger for tilladte pesticidstoffer, der indeholder én eller flere C-CF₃ grupper. I risikovurderingen bør der tages højde for, at TFA sandsynligvis vil dannes udover det første år efter sprøjtning, samt at mere moderstof eller C-CF₃ metabolitter end angivet ud fra godkendelsens interceptionstal sandsynligvis vil ende i jordmiljøet med mulig omdannelse til TFA.

En betydelig del af TFA i dansk grundvand kommer sandsynligvis fra nedbrydning af pesticidstoffer, men det er svært for en given grundvandsprøve at vurdere om pesticidbidraget overskrider pesticidstofferne generelle kravværdi på 0,1 µg/L. Det skyldes, at bidraget fra atmosfærisk deposition er over 0,1 µg/L i det nydannede grundvand. Da TFA sandsynligvis er stabilt i

grundvandet, vil en stadig stigende andel af grundvandsressursen indeholde TFA over 0,1 µg/L, så længe summen af pesticidbidraget og den atmosfæriske deposition i nedbøren er over 0,1 µg/L.

7. Udvikling og validering af kemiske metoder til kvantificering af TFA og moderstoffer

Metodeafsnittet dækker følgende metoder og forsøgsbeskrivelser: Analysemetode 1 - Udvikling og implementering af metode til kvantificering af TFA i jord og vand; Analysemetode 2 - Udvikling og implementering af metode til kvantificering af C-CF₃ moderstoffer i jord.

7.1 Metodeudvikling til analyse af trifluoreddikesyre med UPLC-MS/MS

7.1.1 Analysemetode 1: Trifluoreddikesyre (TFA)

TFA blev indkøbt fra Sigma-Aldrich/Merck (Darmstadt, Tyskland). ¹³C₂-TFA intern standard (sodium trifluoroacetate-¹³C₂), blev indkøbt fra LGC Standards, product code TRC-S673752. Stamopløsninger blev fremstillet i metanol og opbevaret ved -20 °C. Prøverne blev analyseret på UPLC-MS/MS (Acquity Classic UPLC med Xevo TQ-S micro MS fra Waters) ved brug af en Atlantis Premier BEH C18 AX FIT kolonne (2,1 x 150 mm, 1,7 µm partikler, FIT-forkolonne, Waters). Kolonneovnen blev sat på 50°C. Mobilfasen var (A) acetonitril og (B) 2 mM ammoniumacetat, med en gradient på 14 min. ved et flow på 0,25 mL/min: 0-0,5 min 0% A; 0,5-9 min 0%→75% A; 9-10 min 75% A; 10-10,5 min 75%→0% A; 10,5-13 min 0% A. Der blev injiceret 20 µL. Massespektrometret kørte med electrospray ionisering i negative mode, ved følgende parametre: Desolvation temperatur: 500°C, Desolvation gas: 1000 L/h, Cone gas: 30 L/h, Capillary: 0,3V, Source temperatur: 150°C. Stofferne blev analyseret med en kvantificeringsion og en kvalificeringsion. En isotopmærket TFA (¹³C₂-TFA) blev anvendt som intern standard.

TABEL 22. Massespektrometriske indstillinger til TFA og ¹³C₂-TFA (cone voltage, kvantificeringsionspor med kollisionseenergi samt kvalificeringsionspor).

Stof	Cone [V]	Kvant. ion (Kollisionseenergi CE)	Kval. ion (Kollisionseenergi CE)
TFA	15V	113 → 69 (CE 8V)	113 → 113 (CE 4V)
¹³ C ₂ -TFA	15V	115 → 70 (CE 8V)	(115 → 115 (CE 4V))

Vandprøver blev filtreret med et PES sprøjtefilter (0,22 µm) inden analyse. Til optimeringsforsøg blev jordprøver sigtet gennem en 2 mm sigte. En prøve blev udtaget til bestemmelse af vandindhold. 3 g jord (tørvægt) blev tilsat 5 mL 10 mM KCl i et Pyrex-rør med "hjemmelavet" aluminium-liner (udstanset fra alufolie) i låget for at undgå TFA-afsmitning fra septum. Denne opsætning svarer til prøverne i hovedforsøget (kapitel 11, forsøg 2). Efter 15 min. på ultralyd blev prøverne sat på rystebord natten over. Prøverne blev centrifugeret ved 1500g i 20 minutter. Supernatanten blev filtreret gennem et PES sprøjtefilter (0,22 µm) inden analyse.

I alle analyseserier blev der målt på forskellige typer blindprøver: MilliQ-vand, 1 mM kaliumchlorid (ekstraktionsmiddel til TFA-ekstraktionen), samt en Std. 0, uden TFA, men med ¹³C₂-TFA som intern standard, for at kontrollere for eventuelle urenheder i den interne standard.

Desuden indgik der i hver serie analyse af ekstraktet en blank jordprøve af hver jordtype, hvor der ikke var spiket med TFA eller pesticid.

TFA måles med to masseovergange, m/z 113 \rightarrow 69 og m/z 113 \rightarrow 113, for at opnå en sikker identifikation, og ratioen mellem signalet ved de to masseovergange beregnes og sammenlignes med den eksterne standards ratio. For sikker bestemmelse må ratioen i prøvens TFA ikke afvige mere end 35% fra ratioen i den eksterne standard. Masseovergangen m/z 113 \rightarrow 69 bruges til kvantifikation. Koncentrationen skal desuden være \geq den laveste koncentration i standardrækken. Metoden er lineær i koncentrationsområdet 0,03 – 30 $\mu\text{g/L}$. Alle prøver blev målt i randomiseret rækkefølge og med dobbeltbestemmelse (dobbelt injektion). Hvis kun det ene af de to resultater overholdt kravene til ratio og koncentration, er prøveresultatet afrapporteret med angivelse af forøget usikkerhed.

Fragmentering af TFA (m/z 113) gav kun ét målbart fragment (m/z 69), som er anvendt til kvantificering. Som bedste alternativ blev der som kvalifikation i stedet målt på m/z 113 igen efter fragmentering med lavere kollisionsenergi, som bevarer TFA intakt, men ødelægger evt. co-eluerende forbindelser eller solventclustre med samme m/z -værdi, som derved fjernes fra chromatogrammet. Måling af den samme m/z -værdi før og efter fragmentering giver ikke helt den samme specificitet som med et egentligt fragment. Men da ratioen mellem arealerne i kvantificeringstoppen og kvalificeringstoppen skal overholde de fastsatte grænser, opnås alligevel en sikker identifikation i kombination med en isotop-mærket intern standard.

7.1.2 Metodeudvikling: Valg af kolonne

TFA er en stærk syre ($pK_a = 0.52$) der under almindeligt forekommende betingelser findes i sin negativt-ladende form, CF_3COO^- . TFA har derfor en høj vandopløselighed, trods CF_3 -gruppens hydrofobe egenskaber. En HPLC-kolonne, der helt eller delvist baseres på ion-bytning, var derfor det mest oplagte valg. På baggrund af litteraturgennemgang (Scheurer et al., 2017; Wilmer et al., 2022; Seits et al., 2018; Phenomenex, 2020) og kontakt til Eurofins blev følgende kolonner overvejet:

- BioZen Glycan 2,6 μm , 150x2.1 mm (Phenomenex)
- Dionex™ IonPac™ AS17-C IC, 2x250 mm
- K'Prime RPPX, 5 μm , 4,6 x 250 mm
- Luna Omega 3 μm Polar C18 (Phenomenex, benyttes hos Eurofins)
- Atlantis Premier BEH C18 AX FIT Column, 1,7 μm , 2,1 x 150 mm, (Waters)

Atlantis-kolonnen, hvor kolonnematerialet er en blanding af C18 og anionbytter, viste god TFA-tilbageholdelse, og den videre metodeudvikling tog derfor udgangspunkt i denne kolonne. Efter observation af stigende tryk over kolonnen efter analyse af jordekstrakter (kapitel 11, forsøg 1), overgik vi til en kolonne af samme type, hvor der kan monteres en forkolonne: Atlantis Premier BEH C18 AX Column, 1,7 μm , 2,1 x 150 mm, FIT (Waters).

7.1.3 Metodeudvikling: Mobilfase, flow, gradient og kolonnetemperatur

Den valgte kolonne er beskrevet anvendt til TFA-analyse med en eluent bestående af 2 mM ammoniumacetat + 0,001% myresyre, med flow på 0,5 mL/min. ved 60 °C (2,1 x 100 mm kolonne) (Wilmer et al., 2022). I laboratoriet anvendes imidlertid fortrinsvis vandig mobilfase baseret på myresyre, så det blev forsøgt først. Det lykkedes dog først at få en TFA-top ud ved brug af 2 mM ammoniumacetat og 0,001% myresyre, i en gradient med acetonitril (ACN).

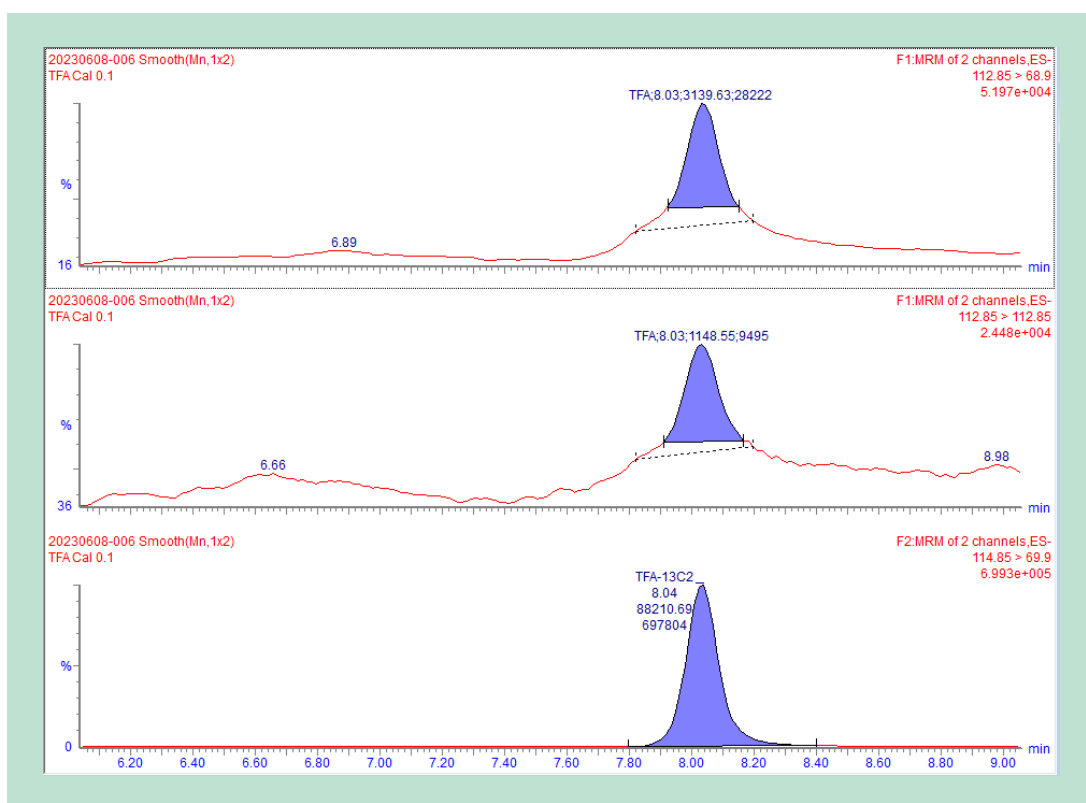
Der blev forsøgt med forskellige koncentrationer af myresyre i mobilfasen. De bedste resultater blev opnået med lavere koncentration, og den endelige mobilfase blev derfor fremstillet alene med 2 mM ammoniumacetat, uden myresyre. For at forebygge udfældninger og tilstopning i systemet som følge af gradienten med ACN, blev der testet for udfældning ved blanding

af 2 mM ammoniumacetat med ACN i blandingsforhold fra 50% ACN til 95% ACN. Der blev ikke observeret nogen udfældning.

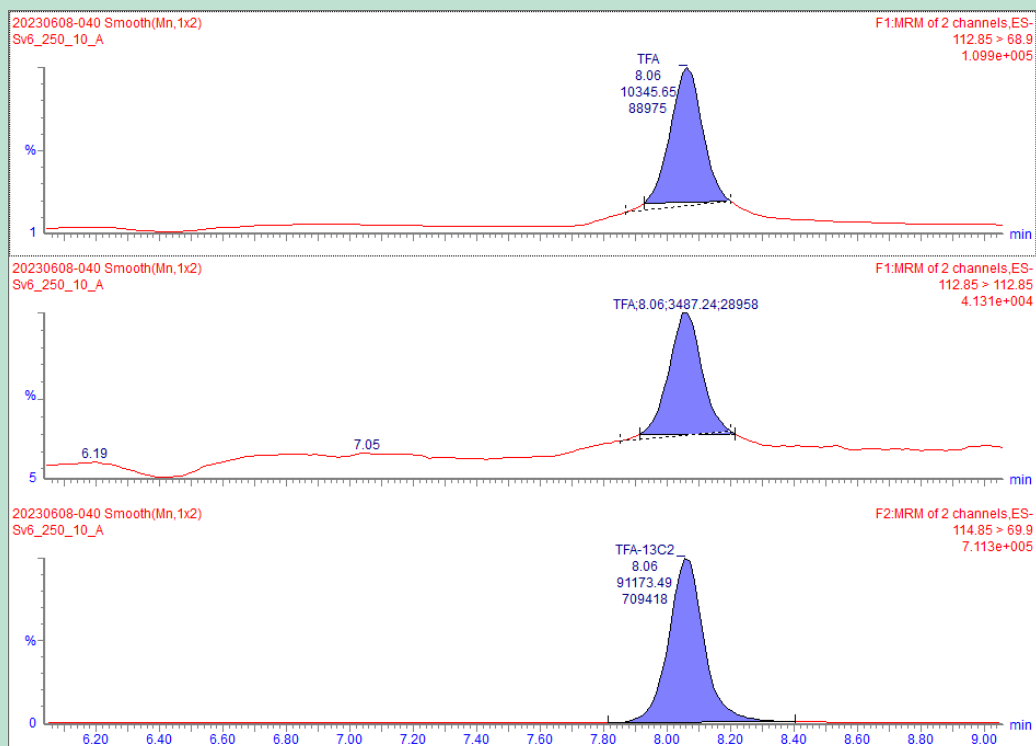
Gradientprogrammet blev udviklet med en flowhastighed på 0,25 mL/min. og kolonnetemperatur på 50°C, med udgangspunkt i en gradient gik fra 0 – 95% ACN med en samlet analysetid på 14 min. Da TFA-toppen eluerer ovenpå en bredere, flad top, blev der forsøgt forskellige justeringer af gradienten for at adskille de to toppe og opnå en flad basislinje omkring TFA-toppen. Det lykkedes ikke, men med en gradient fra 0 – 75% ACN og en samlet analysetid på 14 min. opnåedes et acceptabelt resultat, hvor TFA-toppen kan afgrænses fra baggrunden.

Figur 1 viser chromatogrammer fra analyse af en TFA-standard i koncentrationen 0,1 µg/L. Figur 2 viser en ekstraheret jordprøve i koncentrationen 0,1 µmol/kg.

I hver serie indgik analyse af ekstraktet fra en blank jordprøve, der ikke var spiket med TFA, og det målte TFA baggrundsniveau blev fratrukket resultaterne for TFA ved beregning af pesticidernes TFA- dannelse. Derudover blev alle prøver injiceret to gange og analyseret og integreret i tilfældig rækkefølge. Den relative standardafvigelse fra disse dobbeltinjektioner er <5% for størstedelen af prøverne, og kun i få prøver >10%, hvilket indikerer en rimelig ensartet integration.



FIGUR 14. Chromatogram af TFA-standard 0,1 µg/L i MilliQ vand. Øverst: kvantificeringsion. Midten: identificeringsion. Nederst: intern standard kvantificeringsion



FIGUR 15. Chromatogram af ekstraheret jordprøve (Svanholm 6). Jorden blev spiket med TFA til 0.1 mmol/kg, svarende til koncentrationen ved 1% omdannelse af pesticid til TFA i nedbrydningsforsøgene. Prøven er filtreret og fortyndet 10x inden analyse. Øverst: kvantificeringsion. Midten: identificeringsion. Nederst: intern standard kvantificeringsion. Genfindning 77.9%.

7.1.4 Metodeudvikling: Test af TFA-afsmitning fra udstyr og materialer

Mange materialer, som anvendes i laboratorie, kan give afsmitning af TFA. Det gælder særligt teflon, men også glas og plast. For at minimere, eller helst undgå TFA-afsmitning, blev der udført test på en række af det udstyr, som anvendes i prøvetagning, prøveforberedelse og analyse. Følgende laboratorieudstyr er testet: HPLC-vials, låg til HPLC-vials, eppendorfrør, centrifugerør af plast, plastsprøjter og sprøjtefiltre, pyrexrør, scintillationsvials, aluminiumsfolie, samt glødet og syret sand.

Både almindelige skruelåg til vials og PFAS-frie låg (begge fra Frisenette) giver TFA-afsmitning. Prøver i vials mixes derfor forsigtigt uden låg, hvorefter låget skrues på. Prøvevolumen i vials begrænses til 1050 µL, for at undgå tab af prøve under mix. Baggrundsniveauet er kraftigt minimeret ved optimering af materialer og procedurer, men er ikke elimineret fuldstændigt, hvilket giver lidt øget usikkerhed i kvantifikationen ved de laveste koncentrationer.

Laboratorieudstyr der må anvendes:

- HPLC-vials i brunt glas til skruelåg, 1.5-mL (Frisenette)
- Eppendorfrør/Microtube 1,5 mL (Sarstedt)
- Centrifugerør, 50-ml, PE, røde og lilla låg (Sarstedt)
- PE-pipettespidser (Sartorius)
- PE engangspipetter (Sarstedt) eller pasteurpipetter i glas
- Brune glasvials med skruelåg 4-mL og 9-mL (Machery-Nagel). Anvendes med "hjemmelavet" aluminiumliner i låg
- Chirana 1 mL sprøjter (Chirana)
- PES sprøjtefiltre (Frisenette)

- Pyrex rør, 12-mL, anvendes med "hjemmelavet" aluminiumliner i låg
- Plast-scintillationsvials (Duran Wheaton Kimble)

For at undgå afsmitning fra skruelåg med septum, lavede vi aluminiumslinere ved at udstanse aluminiumfolie i cirkler med passende diameter.

7.1.5 Metodeudvikling: Test og validering af metodens linearitet, præcision og nøjagtighed

Metoden er lineær i koncentrationsområdet 0,03 – 30 µg/L. Der blev til hver analyseserie fremstillet to kontrolprøver i to koncentrationer for hver jordtype, og hver prøve blev injiceret 3 gange i løbet af serien. Analysens repetérbarhed i fortyndede, spikede jordekstrakter var 3,4 – 4,8% (0,1 µg/L) og 2,2 – 5,2 % (1,0 mg/L). Genfinding i jordekstrakter var 92,0 – 94,7% (0,1 µg/L) og 95,0 – 99,9% (1,0 µg/L). Genfinding ved ekstraktion af spikede jordprøver var 77,9% (0,1 µmol/kg), 104,8 (0,5 µmol/kg) og 104,7% (1,0 µmol/kg), svarende til TFA-koncentrationen ved omsætning af hhv. 1, 5 og 10 % af den tilsatte mængde pesticid i nedbrydningsforsøgene.

Metoden nøjagtighed blev yderligere undersøgt ved kontrolanalyse hos Eurofins af tre vandprøver, hvoraf de to var spiket jordekstrakt i 10 gange fortynding (svarende til den anvendte fortynding ved analyse af jordekstrakter), samt en spiket hanevandsprøve. For alle tre prøver lå den målte værdi fra laboratoriets analyse indenfor konfidensintervallet ($\pm 30\%$) af resultatet fra Eurofins (TABEL 23).

TABEL 23. TFA kontrolanalyse hos Eurofins.

Prøve nr	Beskrivelse	Målt GEUS (µg/L)	Målt Eurofins (µg/L)
GEUS_TFA_001	Spiket jordekstrakt, Svanholm 1	2,46	2,6 ± 0,78
GEUS_TFA_003	Spiket jordekstrakt, Svanholm 6	0,38	0,30 ± 0,09
GEUS_TFA_004	Spiket hanevand	0,088	0,085 ± 0,026

7.2 Metode til analyse af TFA's moderstoffer med UPLC-MS/MS

7.2.1 Analysemetode 2: Moderstoffer

Fluopyram, fluazinam, diflufenican, trifluralin, fluazifop-P-butyl, og tau-fluvalinat blev indkøbt fra Sigma-Aldrich / Merck (Darmstadt, Tyskland), mens mefentrifluconazol blev indkøbt hos LGC Standards. Stamopløsninger (1000 mg/L) blev fremstillet i metanol og opbevaret ved -20 °C. Fluazifop-P blev senere tilføjet til analyseprogrammet, hvor der blev anvendt en ældre stamopløsning (100 mg/L i ACN) fra 2014. (Sigma-Aldrich). Resultaterne for fluazifop-P er derfor behæftet med en vis usikkerhed. Prøverne blev analyseret på UPLC-MS/MS (Acquity Classic UPLC med Xevo TQ-S micro MS fra Waters) ved brug af en Acquity UPLC HSS C18 kolonne (2,1 mm x 100 mm, 1,8 µm partikler). Kolonneovnen blev sat på 30°C. Mobilfasen var (A) ACN m. 0,1% myresyre og (B) 0,1% myresyre i MilliQ-vand, med en gradient på 13 min. ved et flow på 0,3 mL/min: 0-0,5 min 15% A; 0,5-6 min 0%→95% A; 6-10 min 95% A; 10-10,5 min 15%→0% A; 10,5-13 min 15% A. Der blev injiceret 5 µL. Massespektrometret kørte med electrospray ionisering i positiv mode, undtagen fluazifop-P der kørte med ionisering i negativ mode. Ioniseringen kørte med følgende parametre: Desolvation temperatur: 500°C, desolvation gas: 1000 L/h, cone gas: 30 L/h, capillary: 0,3V, source temperatur: 150°C. Stofferne blev analyseret med en kvantificeringsion og en kvalificering ion (TABEL 24). En isotopmærket mefentrifluconazol (mefentrifluconazol-d4) blev anvendt som intern standard. Metoden er lineær i intervallet 0,3 – 90 µg/L, ved injektion af 5 µL.

TABEL 24. Massespektrometriske indstillinger til TFA-moderstoffer (cone voltage, kvantificeringsionspor med kollisionenergi samt kvalificeringsionspor).

Stof	Cone [V]	Kvant. ion (Kollisionenergi CE)	Kval. ion (Kollisionenergi CE)
Fluopyram	25V	397 → 208 (CE 20V)	397 → 173 (CE 25V)
Diflufenican	25V	395 → 266 (CE 22V)	395 → 375 (CE 18V)
Fluazifop-P-butyl	50 V	385 → 283 (CE 20V)	385 → 329 (CE 15V)
Fluazifop-P	30 V	326 → 326 (CE 5V)	326 → 254 (CE 12V)
Mefentrifluconazol	50 V	398 → 70 (CE 22V)	398 → 182 (CE 30V)
Fluazinam	50 V	465 → 373 (CE 25V)	465 → 338 (CE 40V)
Mefentrifluconazol-d4 (IS)	50 V	402 → 70 (CE 22V)	402 → 182 (CE 30V)
Tau-Flavulinat	30 V	503 → 181 (CE 25V)	503 → 208 (CE 10V)

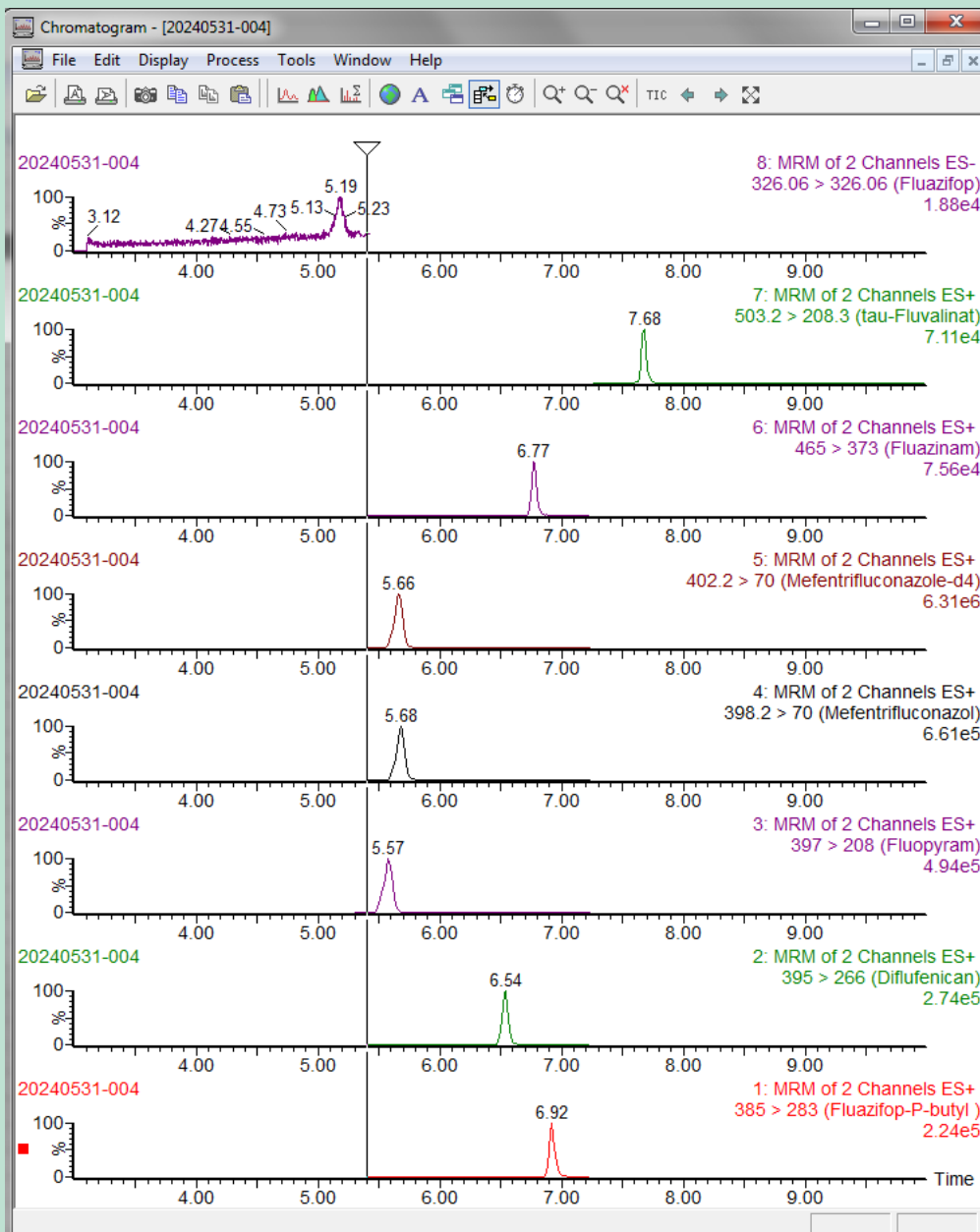
Analyse af trifluralin blev opgivet, da det ikke lykkedes at findes masseovergange, der viste sikker tilknytning til trifluralin, dvs. hvor MS-signalet viste sammenhæng med koncentrationen af trifluralin. Efterfølgende blev analyse af tau-flavulinat også opgivet pga. stor interferens fra matrix i jordprøverne, sandsynligvis pga. tau-flavulinales store affinitet for organisk stof.

Alle stofferne måles med to masseovergange (se TABEL 24) for at opnå en sikker identifikation, og ratioen mellem signalet ved de to masseovergange beregnes og sammenlignes med den eksterne standards ratio. For sikker bestemmelse må ratioen i prøven ikke afvige mere end 35% fra ratioen i den eksterne standard. Koncentrationen skal desuden være \geq den laveste koncentration i standardrækken. Kalibreringsstandarderne til analyse af jordprøverne fremstilles med tilsætning af blank-matrix fra jorden Sv6, og dækker koncentrationsområdet 0,3 – 90 $\mu\text{g/L}$. Alle prøver blev målt med dobbeltbestemmelse (dobbelt injektion). Hvis kun det ene af de to resultater overholdt kravene til ratio og koncentration, er prøveresultatet afrapporteret med angivelse af forøget usikkerhed.

Jordprøverne (ca. 3 g jord, tørvægt) blev tilsat 6 mL 1% myresyre i ACN i 12-mL pyrex-rør. Efter 15 min. på ultralyd blev prøverne sat på rystebord natten over. Prøverne blev centrifugeret ved 2500 RPM (1500 x g) i 20 minutter. Supernatanten blev filtreret med et PTFE sprøjtefilter (hydrofob, 0,22 μm) inden analyse og derefter fortyndet 20 gange med en blanding af Milli-Q vand og methanol i forholdet 5:4, og tilsat intern standard.

7.2.2 Metodeudvikling: Kolonne, mobilfase, flow, gradient og kolonnetemperatur

I laboratoriet anvendes kolonnerne af typen Acquity HSS C18 og Acquity BEH C18 til mange multianalyser, herunder analyser af stoffer der er strukturelt beslægtede med de syv pesticid-moderstoffer i TriFluPest. Derfor blev metodeudviklingen indledt med anvendelse af en Acquity HSS C18, 2,1 x 100 mm, 1,8 μm partikler. På baggrund af gode resultater blev denne kolonne valgt til analysen, uden at afprøve andre kolonnetyper. Som udgangspunkt blev der anvendt acetonitril (eluent A) og 0,1% myresyre i MQ (eluent B), med en flowhastighed på 0,3 mL/min. og kolonnetemperatur på 30°C. Gradienten gik fra 0 – 100% ACN med en samlet analysetid på 11 min. I den endelige metode blev gradienten justeret, så den gik fra 15 – 95% med en analysetid på 13 min., og der blev tilsat 0,1% myresyre i eluent A, da både vand og myresyre var afgørende for signalet for tau-flavulinat, der eluerede sent i gradienten. Analyse af prøver med samme pesticid-koncentration, men med stigende andel af methanol i prøvematrix viste, at det bedste signal på massespektrometeret blev opnået med 50% methanol i prøven.



FIGUR 16. Chromatogrammer fra analyse af en standard i koncentrationen 1,0 µg/L. Figuren viser ion-sporet til kvantificering. Standarden er udført i matrix Sv6 i samme fortynding som i prøverne.

7.2.3 Metodeudvikling: Ekstraktion af moderstoffer fra jord

Der blev testet fire forskellige solventer til ekstraktion af jordprøverne: 100% ACN, 50% ACN/MQ, 100% MeOH, og 50% MeOH/MQ – alle med 1% myresyre. Ekstraktion med 100% ACN + 1% myresyre var bedst, og blev derfor valgt til det videre arbejde. Genfindingen var under 50% for fluazifop-P-butyl, hvilket kunne skyldes hurtig omdannelse i jorden til fluazifop-P. Derfor blev Fluazifop-P tilføjet til ekstraktions- og analysemetoden, så summen af de to stoffer kunne give et mere retvisende billede af nedbrydningen af fluazifop-P-butyl. Det centrifugerede og filtrerede jordekstrakt blev testet i både 10x fortynding og 20x fortynding. Til fortyndingen blev anvendt en blanding af Milli-Q vand og methanol i forholdet 5:4. Der var lidt større standardafvigelse ved 20x fortynding, men denne blev alligevel valgt, da koncentrationen i særligt T₀-prøverne forventedes at være meget høj.

7.2.4 Metodeudvikling: Test og validering af metodens linearitet, præcision og nøjagtighed

Metoden er lineær i koncentrationsområdet 0,3 – 90 µg/L. Analysens repetérbarhed i fortyndede, spikede jordekstrakter var 1,6 – 5,4% for en koncentration svarende til 10% af T₀ i laborieforsøg 2 beskrevet nedenfor. Genfindingen er beregnet som gennemsnittet af tre individuelle prøver, som hver blev injiceret to gange. Genfinding ved ekstraktion af spikede jordprøver, svarende til 10% af T₀, var 89 - 95%. Genfinding for fluazifop-P-butyl var på 70%, hvilket sandsynligvis skyldes dannelse af fluazifop-P, da stoffet kunne måles i disse prøver, selv om det ikke var tilsat til jorden. I laborieforsøgene beregnes derfor en sum af fluazifop-P-butyl og fluazifop-P.

Tabel 25. Moderstoffernes kvantifikationsgrænser (LOQ) i jordekstrakt og omregnet til koncentration i jord. LOQ er bestemt som det laveste niveau i kalibreringskurven, som kan bestemmes med en præcision på højst 20% og en nøjagtighed på 80-120%.

Stof	Jordekstrakt (µg/L)	Jord (µg/kg)
Fluazinam	1,0	24,0
Mefentrifluconazol	0,3	7,2
Fluopyram	1,0	24,0
Diflufenican	0,3	7,2
Fluazifop-P-butyl*	0,3	7,2
Fluazifop-P	0,3	7,2

8. Materialer og metoder anvendt i projektets laboratorieforsøg

Metodeafsnittet beskriver følgende laboratorieforsøg. 1) Opsætning af forsøg til korttids-screening for TFA-dannelse i jordslurry spiket med C-CF₃-pesticider; 2) Opsætning af hovedforsøg til bestemmelse af TFA dannelsesfraktioner i jord spiket med C-CF₃-pesticider.

Materialer

Fluazinam, Merck product nr. 34095 Supelco PESTANAL, analytical standard

Trifluralin, Merck product nr. 32061 Supelco PESTANAL, analytical standard

Fluopyram, Merck product nr. 32462 PESTANAL, analytical standard

Tau-fluvalinat, Sigma-Aldrich / Merck (Darmstadt, Tyskland).

Diflufenican Sigma-Aldrich / Merck (Darmstadt, Tyskland).

Mefentrifluconazol, LCG Standards.

Fluazifop-P-butyl, Sigma-Aldrich / Merck (Darmstadt, Tyskland).

Trifluoreddikesyre, Sigma-Aldrich / Merck (Darmstadt, Tyskland).

Præparatglas 24/25 x 100 mm flad bund. Hounissen varenummer 1662.6024.

Cap-o-test caps I aluminium.

12-ml pyrex centrifugerør (glas) med teflonliner i lågene.

Hjemmelavede alu-liners udstanset i alu-folie som indlæg i lågene til pyrex centrifugerørerne.

Natrium trifluoroacetat-¹³C₂, intern standard, LGC Standards, product code TRC-S673752.

Bushnell-Haas Broth, mineral medium (Difco Cat. No. 218105).

Kvartssand, Dansand 0,13-0,36 fra GreenCat.

Inkubationskasser i plast (Oslo food canister, Plast Team, www.plast-team.com).

TABEL 26. Jorde brugt i forsøgene. Sv: Svanholm Gods. VAP: marker drevet under Pesticid-varslingsprogrammet. SOM: soil organic matter bestemt som loss-on-ignition.

	Type	% silt+ler	% ler	% SOM
Sv1	Sandet, økologisk i omdrift	29,4	3,0	3,8
Sv3	Leret, økologisk i omdrift	60,9	9,6	4,5
Sv6	Sandet, økologisk græsland	33,6	2,7	3,7
VAP-Jynde vad	Sandet, konventionel	8,3	5,3	2,9
VAP-Fårdrup	Leret, konventionel	28,5	15,3	2,5
VAP-Lund	Leret, konventionel	45,5	13,1	2,0

8.1 Forsøg 1: Kort-tids screening af jorde for omdannelse af pesticider til TFA i jordslurry

8.1.1 Formål

En kort-tids screening af forskellige jorde for at teste om man hurtigt kan få et relativt mål for jordenes evne til at omdanne C-CF₃-pesticiderne til TFA med en "quick-and-dirty" metode, hvor nedbrydningen accelereres af optimale vækstbetingelser mht. næringssalte, kulstof, omrøring og temperatur.

I screeningen inkuberes jordslurry med C-CF₃ pesticider i oxisk, flydende rystekultur i 10%-styrke Bushnell-Haas mineralmedium med peptone og gærekstrakt for at give gode vækstbetingelser for jordenes mikroorganismer. Jordene blev indsamlet i januar 2023. Jordene blev indsamlet fra pløjelaget som 15 stik/delprøver á ca. 100 g jævnt fordelt indenfor et areal på ca. 10 x 10 m (i alt ca. 1,5 kg). Prøverne blev opbevaret i en PE-plastposer ved 5°C i op til 34 dage inden forsøgsstart. Der blev indsamlet jorde fra tre konventionelt drevne marker fra pesticidvarslingsprogrammet (10/1-2023, Fårdrup, ler; Lund, ler; Jyndevad, sand) og fra tre marker, der har været drevet som økologisk jordbrug i mindst 25 år (18/1-2023, Svanholm SV1, sand, i omdrift; Svanholm SV3, leret, i omdrift; Svanholm SV6, sandet, permanent græs).

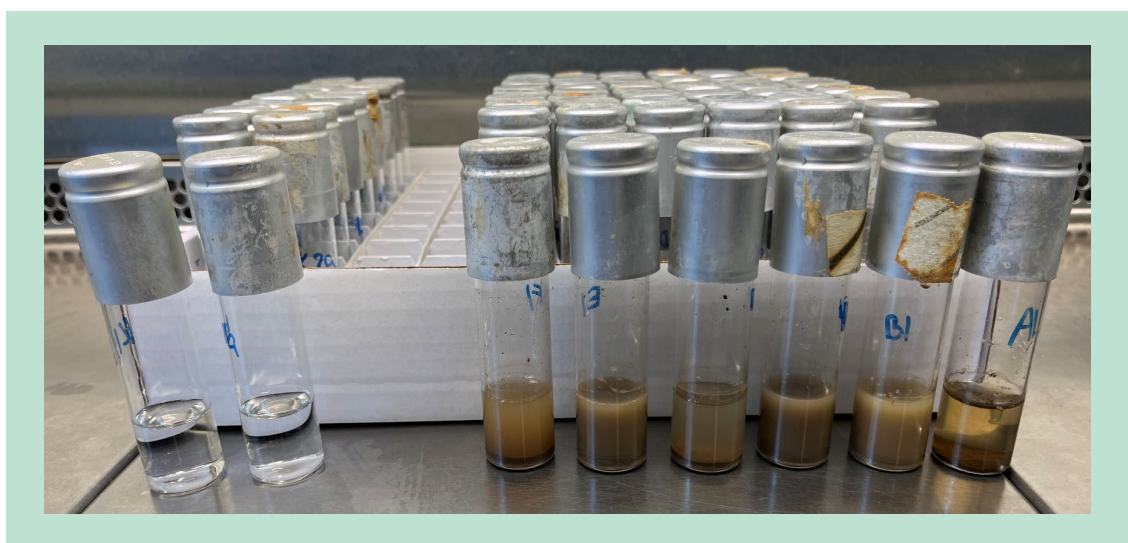
Screeningen blev udført som en klassisk mikrobiel berigelse, det var derfor vigtigt at arbejde i sterilbænk med fuldt sterile arbejdsgange, specielt i kontrolbehandlinger. 10% styrke Bushnell-Haas-medium med tilsat kulstof havde følgende sammensætning (pr liter): magnesiumsulfat 0,02 g, calciumchlorid 0,002 g, monokaliumfosfat 0,1 g, diammoniumhydrogenfosfat 0,1 g, kaliumnitrat 0,1 g, ferrichlorid 0,005 g, pepton 0,2 g, gærekstrakt 0,2 g. Forsøgsopsætningen indeholdt negative kontroller med jordsuspension uden pesticid, negative kontroller med pesticid uden jordsuspension, negative reagent blanks (ikke jordsuspension, ikke pesticid), samt positive kontroller tilsat TFA. TABEL 26 viser en oversigt over de forskellige behandlinger og kontroller.

8.1.2 Fremgangsmåde

1. Stamopløsninger med pesticider laves ved at opløse pesticiderne i metanol i en koncentration på ca. 1 mg/ml, den absolutte koncentration noteres med fire betydende cifre. TFA opløses i fosfatbuffer (50 mM, pH=6,5) til en koncentration på 5 mg/ml.
2. Fire dage inden forsøgsopsætning blandes jordprøverne i posen.
3. Vandindhold bestemmes ved tørring af ca. 20 g natten over ved 105 grader.
4. Jordprøver (>15 stik fra posen ca. 150 g) for-inkuberes 4 dage ved 20 grader i PE-pose inden forsøgsopsætning.
5. Autoklaverede testrør (præparatglas 25x100 mm) spikes i LAF-bænk med pesticid i metanol-opløsning til en endelig koncentration på 0,1 mM i 10 ml, hvorefter metanolen afdampes, eller med TFA som tilsættes i autoklaveret vand der ikke afdampes.
6. Jordene suspenderes (jord svarende til 30 g tørvægt ad 150 ml = 1:5 w/v) i 10% styrke Bushnell-Haas mineral medium med kulstof, 10 ml suspension tilsættes til de autoklaverede testrør med pesticider, ryst suspension inden pipettering. Der laves duplikater af mediekontroller uden jord, så der er en ekstra, hvis der kommer vækst i det ene.
7. 1 ml to-prøve udtages sterilt i LAF-bænk og fryses med det samme i eppendorfrør.
8. Testrørene "lukkes" med autoklaverede Cap-O-Test caps som tillader ilt-passage, vær omhyggelig med steriliteten.
9. Testrørene vejes, så der kan kompenseres for fordampning.
10. Testrørene inkuberes i mørke ved 20° og 80 rev min⁻¹ i inkubatorskab. Hver 7. dag rystes rørene manuelt for at resuspendere alle partikler.
11. Efter 10 dage og 30 dage vejes testrørene og der udtages 1-ml prøver under sterile forhold i LAF-bænk. Prøverne overføres til 1,5-ml eppendorfrør og gemmes i fryseren. På dag 10 vejes rør også efter udtagning af prøver.
12. På dag 30 udstryges alle kontroller på R2A for at bekræfte at de stadigvæk er sterile.
13. Frosne prøver tøs op, partikler spindes fra ved 10.000g i 3 min. Supernatant overføres til GC-vials og analyseres for TFA som vandige prøver, pesticidprøver fortyndes 100x med MilliQ-vand inden TFA-analyse, kontroller med TFA fortyndes 1000x inden TFA-analyse.

TABEL 27. Prøveoversigt til kort-tids screening af jorde for omdannelse af modelpesticider til TFA i jordslurry.

Stof	VAP, konventionel			Svanholm, økologisk			Uden jord
	Jyndevad	Lund	Fårdrup	Sv1	Sv3	Sv6	Medie kontrol
Fluopyram	A.1	B.1	C.1	D.1	E.1	F.1	K.1 a og b
Diflufenican	A.2	B.2	C.2	D.2	E.2	F.2	K.2 a og b
Trifluralin	A.3	B.3	C.3	D.3	E.3	F.3	K.3 a og b
Fluazifop-P-butyl	A.4	B.4	C.4	D.4	E.4	F.4	K.4 a og b
Fluazinam	A.5	B.5	C.5	D.5	E.5	F.5	K.5 a og b
tau-Fluvalinat	A.6	B.6	C.6	D.6	E.6	F.6	K.6 a og b
Mefentrifluconazol	A.7	B.7	C.7	D.7	E.7	F.7	K.7 a og b
TFA	A.8	B.8	C.8	D.8	E.8	F.8	K.8 a og b
Kun afdampet metanol	A.9	B.9	C.9	D.9	E.9	F.9	K.9 a og b



FIGUR 17. Forsøgsopsætning til kort-tids screening af jorde for omdannelse af modelpesticider til TFA i jordslurry.

8.2 Forsøg 2, hovedforsøg: Omdannelse af pesticider til TFA i landbrugsjord.

8.2.1 Formål

At afgøre, dels hvorvidt TFA kan dannes ved nedbrydning af de syv C-CF₃-pesticider, dels at bestemme TFA-dannelsesrater under semi-realistiske forhold og dannede TFA-mængder efter et års inkubation, for de pesticider der kan omdannes til TFA.

Delprøver af de tre økologiske landbrugsjorde (Sv1, Sv3 og Sv6) blev spiket med C-CF₃-pesticider enkeltvis i et stort antal reagensglas mikrokosmer efterfulgt af inkubation i op til ét år under oxiske forhold ved 20° i et kammer med vandmættet atmosfære for at mindske tab af vand. Tre mikrokosmer blev ofret for hvert pesticid for hver jord efter 0, 3, 7, 18, 38 og 52 ugers inkubation til TFA-måling. Mikrokosmer uden C-CF₃-pesticider var negative kontroller for at teste for frigivelse af TFA fra jorden eller den efterfølgende prøvebehandling. Moderstofferne nedbrydning blev evalueret ved analyse af parallelle rør efter 0 og 52 ugers inkubation (t_{start} og t_{slut}). Alle moderstoffer tilsættes i en endelig koncentration på 10 µmol/kg.

8.2.2 Fremgangsmåde

1. Jordene blev indsamlet fra pløjelaget den 26/4-2023 og opbevaret i PE-poser ved 5 °C i 14 dage inden forsøgsopsætning. Jordene blev sigtet gennem 2-mm sigte og for-inkuberet i løst-lukkede PE-poser i 2 dage ved 20°C inden forsøget blev sat op (OECD guideline 307 anbefaler 2-28 dage).
2. Jordenes vandindhold blev bestemt ved tørring af ca. 20 g natten over ved 105°C.
3. Kvantssand blev syrevasket i 6 M HCl og derefter i Milli-Q vand til neutral pH og udbagt ved 550°C. 0,5 g udbagt sand ($\pm 0,05$ g) afvejedes i hvert af 576 12-mL pyrex-rør.
4. Til hvert rør blev tilsat 100 μ L pesticid-opløsning (250 μ M i metanol) jævnt fordelt over sandet, hvorefter rørene henstod natten over i stinkskaab til afdampning. Kontrol-rør tilsattes 100 μ L metanol uden pesticid.
5. I hvert pyrexrør afvejedes derefter jord svarende til $2,50 \pm 0,05$ g tørvægt, én jordtype med ét pesticid ad gangen (24 rør), hvorefter jord og spiket sand blandedes med en metalspatel (samme spatel til disse 24 rør) indtil sandet var jævnt fordelt i jorden. Fugttab under jordtilsætning minimeredes ved at placere racks med rør i plastposer.
6. Efter jordtilsætning blev triplikate t_0 -prøver nedfrosset med hjemme-lavet alu-liner i låget (blank-side udad, mod jordprøven). Resten af rørene afvejedes og placeredes i plastkasser med vådt filterpapir i bunden. Hver kasse indeholdt kun én type pesticid og én jordtype.
7. Kasserne inkuberedes i mørke i ved 20°C.
8. Der tilsattes løbende vand, så filterpapiret var gennemvædet. Ved prøveudtagning blev de udtagne rør afvejet og det blev vurderet, om der skulle tilsættes Milli-Q-vand til de resterende rør, så vandindholdet blev hold nogenlunde konstant igennem forsøget. Dette blev gjort tre gange i løbet af forsøgsperioden.
9. Efter 4, 10, 24, 38 eller 52 ugers inkubation blev triplikate rør udtaget, lukket med skruelåg med hjemmelavet alu-liner gemt i fryseren ved -18°C indtil ekstraktion af TFA eller moderstof.
- 10.



FIGUR 18. Rør med pesticid-spiket jord blev inkuberet i op til 52 uger ved 20°C i fugt-mættede men ilt-permeable plastkasser.

8.2.3 Test af TFA-indhold i moderstofferne

Moderstofferne blev fortyndet fra 100 mg/L-stamopløsninger i metanol til 1 mg/L i MilliQ-vand direkte i GC-vials med intern TFA-standard og analyseret for TFA-indhold. TFA blev påvist i mefentrifluconazol-opløsningen, men koncentrationen svarede til en mol-procent på bare 0,017% og var dermed helt ubetydelig i nedbrydningsforsøgene. TFA blev ikke påvist i de andre moderstoffer.

9. Referencer

- Albers CN, Bollmann UE, Badawi N, Johnsen AR. 2022. Leaching of 1,2,4-triazole from commercial barley seeds coated with tebuconazole and prothioconazole, *Chemosphere* 286: 131819. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2021.131819>
- Albers CN. Diffus grundvandsforurening med trifluoreddikesyre (TFA). 2024. DANMARKS OG GRØNLANDS GEOLOGISKE UNDERSØGELSE RAPPORT 2024/4. https://data.geus.dk/pure-pdf/GEUS-R_2024-4_web.pdf
- Albers CN, Sültenfuss J. 2024. A 60-Year Increase in the Ultrashort-Chain PFAS Trifluoroacetate and Its Suitability as a Tracer for Groundwater Age. *Environ. Sci. Technol.* <https://doi.org/10.1021/acs.estlett.4c00525>
- Bao Y, Deng S, Jiang X, et al. 2018. Degradation of PFOA Substitute: GenX (HFPO-DA Ammonium Salt): Oxidation with UV/Persulfate or Reduction with UV/Sulfite? *Environ Sci Technol* 52, 11728–11734. DOI: 10.1021/acs.est.8b02172
- Barlebo H, Rosebom AE, Kjær J. 2007. Evaluation of Pesticide Scenarios for the Registration Procedure. Danish Environmental Protection Agency. Environmental Project No. 1178. <https://www2.mst.dk/udgiv/publications/2007/978-87-7052-540-4/pdf/978-87-7052-541-1.pdf>
- Bayer CropScience. 2021. Summary of the fate and behaviour in the environment for Fluopyram.. D_PMCA_Section_7_02_M-770117_0005411077.pdf
- Bayer CropScience. 2016 . Summary of the fate and behaviour in the environment for Diflufenican. D_P-MCA_Section_7_01_M-556956_0004001719.pdf
- Bayer, 2020, Propulse SE 250 brugsanvisning, Bekæmpelsesmiddeldatabasen. <https://bmd.mst.dk/External/Entry/DownloadExternal/9bb7a2d3-a477-4f93-9f67-138b29962ffe>
- COMMISSION REGULATION (EC) No 2032/2003 of 4 November 2003 on the second phase of the 10-year work programme referred to in Article 16(2) of Directive 98/8/EC of the European Parliament and of the Council concerning the placing of biocidal products on the market, and amending Regulation (EC) No 1896/2000. 2003R2032— EN— 04.01.2007 — 002.001— 1
- Darine T, Alaeddine C, Fethi B, Ridha M. 2015. Fluazifop-P-butyl (herbicide) affects richness and structure of soil bacterial communities. *Soil Biology and Biochemistry* 81:89-97. <https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2014.10.030>
- DMI. 2024. Temperaturen i Danmark. Downloadet 8/8-2024 fra: <https://www.dmi.dk/klima/temafor-side-klimate-frem-til-i-dag/temperaturen-i-danmark#:~:text=Den%20gennemsnitlige%20C3%A5rlige%20temperatur%20varierer,2020%20er%209,1%C2%B0C.>
- Du P, Wu X, Xu J, Dong F, Liu X, Zheng Y. 2018. Effects of trifluralin on the soil microbial community and functional groups involved in nitrogen cycling. *Journal of Hazardous Materials* 353: 204-213. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2018.04.012>
- EU Reference Laboratories for Residues of Pesticides, 2017. Residues of DFA and TFA in Samples of Plant Origin version 1, EURL-SRM – Residue Findings Report. www.eurl-pesticides.eu/userfiles/file/EurlSRM/EurlSrm_residue-Observation_TFA-DFA.pdf
- EFSA 2009. Conclusion on the peer review of the pesticide risk assessment of the active substance haloxyfop-P (haloxyfop-R). *EFSA Journal* 7:1348
- EFSA 2014. Reasoned opinion on the setting of MRLs for saflufenacil in various crops, considering the risk related to the metabolite trifluoroacetic acid (TFA). *EFSA Journal* 12:3585. Appendix C
- FOCUS 2014. Generic Guidance for Tier 1 FOCUS Ground Water Assessments. Version 2.2.
- FOCUS 2002. Generic guidance for FOCUS groundwater scenarios. Version 1.1.
- Jensen PK og Spliid NH. 2003. Deposition of Pesticides on the Soil Surface. *Bekæmpelsesmiddelforskning fra Miljøstyrelsen*, Nr. 65.

- Joudan S, De Silva AO, Young CJ. 2021. Insufficient evidence for the existence of natural trifluoroacetic acid. *Environmental Science Processes & Impacts* 23: 1641-1649. Doi: 10.1039/d1em00306b
- Kahn MF, Murphy CD. 2021. Bacterial degradation of the anti-depressant drug fluoxetine produces trifluoroacetic acid and fluoride ion. *Appl Microbiol Biotechnol* 105:9359–9369. <https://doi.org/10.1007/s00253-021-11675-3>
- Kronvang B, Ovesen NB, Zak D, Houlborg T, Jernstedt H, van't Veen SGM. 2022. Pesticider i vandløb fra overfladisk afstrømning. *Vand og Jord* 29: 7-12.
- Li S, Du P, Wu X, He H, Zhou L, Don F, Liu X, Zheng Y. 2022 Trifluralin Impacts Soil Microbial Community and Functions. *Frontiers in Environmental Science* 10. <https://doi.org/10.3389/fenvs.2022.813871>
- Miljøministeriet, Departementet. 2021. Orientering om fund af TFA i grundvandet. Notat af 26. januar, 2021.
- Miljø- og Fødevarerministeriet, 2021. BEK nr 1110 af 30/05/2021, Bekendtgørelse om vandkvalitet og tilsyn med vandforsyningsanlæg (drikkevandsbekendtgørelsen).
- Miljøstyrelsen. 2017. Pesticider og biocider, salgstal 1956-2014. Miljøstyrelsen 14. december 2017.
- Miljøstyrelsen. 2019. Framework for the Assessment of Plant Protection Products. Version 1.7. Annex 11 Vegetation cover and deposition on soil.
- Miljøstyrelsen, 2021a. Notat af 23. februar, 2021: Fagligt notat om resultater af massescreening for pesticidstoffer i grundvand 2020.
- Miljøstyrelsen, 2021b. Nyt stof fundet i grundvandet. Downloadet 15/10-2021. <https://mst.dk/service/nyheder/nyhedsarkiv/2021/jan/nyt-stof-fundet-i-grundvandet/>
- Miljøstyrelsen. 2022. Bekæmpelsesmiddelstatistik 2020. Behandlingshyppighed og pesticidbelastning baseret på salg og forbrug. Orientering fra Miljøstyrelsen nr. 54.
- Organisation for Economic Co-operation and Development (OECD). Reconciling Terminology of the Universe of Per- and Polyfluoroalkyl Substances: Recommendations and Practical Guidance Series on Risk Management No.61, 2021.
- Phenomenex. 2020. LCMSMS analysis of trifluoroacetate in groundwater and drinking water using a biozen-glycan 2.6 µm 150 x 2.1 mm column. [phenomenex.com/documents/2020/11/19/21/53/](https://www.phenomenex.com/documents/2020/11/19/21/53/)
- Pickard HM, Criscitiello AS, Persaud D, Spencer C, Muir DCG, Lehnerr I, Sharp MJ, De Silva AO, Young CJ. 2020. Ice Core Record of Persistent Short-Chain Fluorinated Alkyl Acids: Evidence of the Impact From Global Environmental Regulations. *Geophysical Research Letters*. <https://doi.org/10.1029/2020GL087535>
- Richey DG, Driscoll T, Likens GE. 1997. Soil Retention of Trifluoroacetate. *Environ Sci Technol* 31, 1723-1727.
- Scheurer, M., Nödler K, Freeling F, mfl. 2017. Small, mobile, persistent: Trifluoroacetate in the water cycle – Overlooked sources, pathways, and consequences for drinking water supply, *Water Research*, 126: 460-471. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2017.09.045>
- Seitz W, Schulz W, Winzenbacher R. 2018. Advantage of liquid chromatography with high-resolution mass spectrometry for the detection of the small and polar molecules trifluoroacetic acid and sulfamic acid). *J Sep Sci*, 41:4437-4448. <https://doi.org/10.1002/jssc.201800723>
- SEGES 2020. Nye bejdsemidler i enkelte rapssorter. SEGES landbrugsinfo. Downloadet 20/2-2020.
- Sun M, Cui J, Guo J, Zhai Z, Zuo P, Zhang J. 2020. *Chemosphere* 254: 126894. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2020.126894>
- Vestjydsk Agro, 2023. PRO-Tector brugsanvisning. <https://bmd.mst.dk/External/Entry/DownloadExternal/86f1cab5-e734-43e8-a16b-78ca685e7b8a>
- Wackett LP. 2022. Strategies for the Biodegradation of Polyfluorinated Compounds. *Microorganisms* 10: 1664. <https://doi.org/10.3390/microorganisms10081664>

Wilmer H, Adams S De-Alwis J Hancock P. 2022. Routine Determination of Trifluoroacetic Acid (TFA) and Difluoroacetic Acid (DFA) in Surface and Drinking Water by Direct Injection Using UPLC™-MS/MS. Application Note. Waters. <https://www.waters.com/content/dam/waters/en/app-notes/2022/720007765/720007765-en.pdf>

Yano K, Wachi M, Tsuchida S, Kitazume T, Iwai N. 2015. Degradation of benzotrifluoride via the dioxygenase pathway in *Rhodococcus* sp. 065240. *Biosci Biotechnol Biochem* 79:496-504. doi: 10.1080/09168451.2014.982502.

Zhang L, Sun H, Wang Q, Chen H, Yao Y, Zhao Z, Alder AC. 2019. Uptake Mechanisms of Perfluoroalkyl Acids with Different Carbon Chain Lengths (C2-C8) by Wheat (*Triticum Aestivum* L.). *Sci. Tot. Environ.* 654:19–27. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2018.10.443>.

Bilag 1. Regneeksempler

Omregning fra solgt moderstof til potentielle TFA-ækvivalenter (Figur 5)

- A: Salgsmængde moderstof
B: Molvægt moderstof
C: Molvægt TFA
D: Antal C-CF₃ per moderstofmolekyle

Omregning fra solgt moderstof til TFA-ækvivalenter = $A \cdot C / B \cdot D$

Fluopyram som eksempel

A: Salgsmængde moderstof i 2022:	53731,3 kg
B: Molvægt moderstof:	396,76
C: Molvægt TFA	114,02
D: Antal C-CF ₃ per moderstofmolekyle	2

Omregning fra solgt fluopyram til TFA-ækvivalenter

$$= 53731 \text{ kg} \cdot 114,02 / 396,76 \cdot 2 = 30882 \text{ kg}$$

Omdannelse af C-CF₃-pesticider til TFA i procent af moderstoffets potentielle TFA-ækvivalenter i laboratorieforsøget, fluopyram som eksempel (Figur 6, Tabel 7)

Eksemplet tager udgangspunkt i TFA-koncentrationen i laboratorieforsøgets jordekstrakter fra Sv1 jorden og sammenligner med, hvad koncentrationen ville have været, hvis alt tilsat fluopyram blev omdannet til TFA i inkubationsrøret.

Potentiel TFA-koncentration i jordekstrakt ved fuldstændig omdannelse af TFA i jorden (TFA maks):

- A: Jord per rør (g tørvægt): 2,5
B: Tilsat fluopyram i jord ($\mu\text{mol/kg}$): 10
C: TFA maks ($\mu\text{mol/kg}$): = $2 \cdot D = 20$
D: Molvægt TFA 114,02
E: TFA-maks i jord ($\mu\text{g/kg}$): = $C \cdot D = 20 \cdot 114,02 = 2280$
F: Jordvand (mL): 0,38
G: KCl opløsning (mL): 5
H: TFA-maks i ekstrakt ($\mu\text{g/L}$) = $E \cdot (A/1000) / ((F+G)/1000) = 2280 \cdot (2,5/1000) / ((0,38+5)/1000) = 1059$

I: Målt TFA-koncentration uge 52 i jordekstrakter fra Sv1-jord spiket med fluopyram ($\mu\text{g/L}$, n=3): 88,00; 82,35; 81,45

J: Målt TFA-koncentration uge 52 i jordekstrakt fra Sv1 solventkontrol ($\mu\text{g/L}$, n=1): 0,425

K: TFA fra fluopyram i jordekstrakt uge 52 korrigeret for solventkontrol ($\mu\text{g/L}$) = $I - J = 87,58$; 81,93; 81,03

L: Fluopyram omdannet til TFA (%) = $K/H = 8,27$; 7,73; 7,65

M: Fluopyram omdannet til TFA, middelværdi (%) = $(8,27+7,73+7,65)/3 = 7,9$.

Konklusion: Den målte TFA-koncentration svarer til, at 7,9% af det tilsatte fluopyram blev fuldstændig omdannet til TFA.

Overlagsberegninger over TFA-udvaskning fra pløjelaget for udvalgte produkter i kapitel 5, fluopyram som eksempel (Tabel 13)

Produkter: Propulse SE 250 og ProTector

A: Molvægt fluopyram:	396,76
B: Molvægt TFA:	114,02
C: Antal C-CF ₃ pr fluopyram molekyle:	2
D: Koncentration i formulering (g/L):	125,0
E: Årlig mængde formulering (L/ha):	1

F: Omregnet til potentiel TFA, dvs. TFA maks ved 100% omdannelse (g/ha): $=D*B/A*C*E = 125*114,02/396,76*2*1 = 71,8$

G: Omregnet til maks TFA grundvands-koncentration (µg/L) ved 100% omdannelse (omregningsfaktor fra g til µg = 1000000), 300 mm nettonedbør (3000000 l/ha) og 20 °C:
 $= F*1000000/3000000 = 71,8*1000000/3000000 = 24,0$

H: Dannelsesfraktion i labforsøg:	0,065
I: Q ₁₀ korrektionfaktor fra 20 °C til 10 °C:	2,58

J: TFA grundvands-koncentration ved 6,5% omdannelse og 10 °C (µg/L):
 $= G*H/I = 24,0*0,065/2,58 = 0,603$

K: Korrektionsfaktor for planternes interception, andel pesticid afsat direkte på jorden (%).

L: Overslag, dvs. TFA grundvands-koncentration ved 6,5% omdannelse, 10 °C efter interception (µg/L): $= J*K$

	BBCH	K, afsætning på jorden i %	L, endeligt overslag i µg/L
Vinterkorn	30-32	42	0,25
	33-34	21	0,13
	38-45	10	0,06
	51-57	4	0,02
Vårkorn	28-32	43	0,26
	33-35	27	0,16
	49-50	18	0,11
	59-68	20	0,12

TriFluPest - Trifluoreddikesyre (TFA) fra pesticider

TriFluPest-projektet undersøgte, i hvilket omfang trifluor-pesticider (CCF3-pesticider) kan omdannes til trifluoreddikesyre (TFA) i landbrugsjord, og om de dannede TFA-mængder er tilstrækkelige til at påvirke grundvandskvaliteten under sprøjtede marker. TFA er sandsynligvis kemisk stabilt og biologisk unedbrydeligt i jord og grundvand. Teoretisk kan TFA dannes ved nedbrydning af en række pesticid-aktivstoffer, hvor der indgår CCF3-grupper i molekylet. I laboratorieforsøg testede vi derfor CCF3-pesticiders nedbrydning til TFA i landbrugsjorde i løbet af ét år. Syv CCF3-pesticidstoffer blev udvalgt, da de i Danmark har høje årlige salgsmængder og repræsenterer pesticidstoffer med stort historisk salg og pesticidstoffer med stort nutidigt salg. Samtlige testede CCF3-pesticidstoffer kunne omdannes til TFA, men dannelsesraterne varierede meget fra stof til stof og fra jord til jord. TFA-dannelsen blev brugt til at beregne overslag over mulig udvaskning af TFA fra pløjelaget på sprøjtede marker i løbet af ét år efter sprøjtning. Estimerne for de årlige TFA-middelkoncentrationer i vandet, der forlader pløjelaget, varierede for forskellige afgrøder og sprøjtning i forskellige vækststadier. Mefentrifluconazol og tau-fluvalinat gav lave estimater, langt under pesticidstoffernes generelle kravværdi på 0,1 µg/L for drikkevand og grundvand, sandsynligvis fordi disse stoffer binder kraftigt til jordens organiske stof og derfor omdannes langsomt. Diflufenican gav estimater på 0,05-0,12 µg/L. Fluopyram, fluazinam, fluazifop-P-butyl og trifluralin gav alle høje estimater >0,1 µg/L for mange scenarier. Det skal bemærkes, at estimerne er behæftede med store usikkerheder, samt at estimerede middelkoncentrationer i alle tilfælde er langt under drikkevandsbekendtgørelsens sundhedsbaserede kvalitetskrav på 9 µg/L.



Miljøstyrelsen
Tolderundsvej 5
5000 Odense C

www.mst.dk