

VARSLINGSSYSTEM FOR UDVASKNING AF PESTICIDER TIL GRUNDVAND

Ekstraordinær afrapportering af cyazofamid-test på VAP-marken i Jyndeved inklusiv understøttende laboratorieforsøg

MONITERINGSPERIODE
APRIL 2020 TIL JUNI 2022



De Nationale Geologiske Undersøgelser for Danmark og Grønland
Afdeling for Geokemi

Aarhus Universitet
Institut for Agroøkologi
Institut for Ecoscience



Ekstraordinær afrapportering af cyazofamid-test på VAP-marken i Jyndeved inklusiv understøttende laboratorieforsøg



Nora Badawi, Sachin Karan, Eline B. Haarder, Ulla E. Bollmann, Christian N. Albers og Kirsten Kørup

De Nationale Geologiske Undersøgelser for Danmark og Grønland (GEUS)

Klima-, Energi- og Forsyningsministeriet

Institut for Agroøkologi (AGRO)

Aarhus Universitet

Redaktør: Nora Badawi
Forsidefoto af Henning Carlo Thomsen: Kartoffelafgrøde
Layout og grafisk produktion: Forfattere
Trykt: januar 2023

ISSN (print): 2446-4244
ISSN (online): 2446-4252
ISBN (print) 978-87-7871-571-5
ISBN (online) 978-87-7871-570-8

De Nationale Geologiske Undersøgelser for Danmark og Grønland
Øster Voldgade 10, 1350 København K, Danmark
Telefon: +45 3814 2000
E-mail: geus@geus.dk
Hjemmeside: www.geus.dk

Nærværende ekstraordinære rapport er tilgængelig i pdf-format på
www.vap-grundvand.dk

© De Nationale Geologiske Undersøgelser for Danmark og Grønland, 2023

Indhold

1. Hvad er VAP	4
2. Test af cyazofamid i VAP på Jydevad-marken	6
2.1 Udvalgelse af stoffer til monitorering.....	8
3. Resultater af monitorering af nedbrydningsprodukter fra cyazofamid.....	9
3.1 Sugeceller	9
3.2 Monitoringsboringer.....	10
3.3 Vandingsvand	16
4. Diskussion af monitoringsresultater fra VAP	18
5. Nedbrydning af cyazofamid i laboratorieforsøg.....	20
5.1 Batch-nedbrydningsforsøg med cyazofamid.....	20
5.2 Søjleforsøg med cyazofamid og udvaskning af DMS og DMSA	22
6. Konklusion	27
7. Referencer	28
8. Bilag 1	29

1. Hvad er VAP

For at bidrage til at grundvandet ikke forurenes i forbindelse med landbrugets anvendelse af godkendte pesticider, blev ”VARslingssystemet for udvaskning af Pesticider til grundvandet” (VAP; www.vap-grundvand.dk) initieret af Folketinget i 1998. VAP har været i drift lige siden under ledelse af en styregruppe bestående af medlemmer fra Miljøstyrelsen (formandskab), GEUS (projektledelse) samt Aarhus Universitet (AGRO og ECOS). VAP er siden 2018 blevet finansieret som en del af Pesticidstrategien gældende for 2017-21 (Miljø- og Fødevarerministeriet, 2017), og med den nyligt vedtagne pesticidstrategi for 2022-2026 (Miljøministeriet, 2022) understøttes arbejdet i VAP frem til 2026.

VAP er et monitoringsprogram, der ved hjælp af forsøgsmarker har følgende formål:

I praksis at undersøge risikoen for udvaskning af aktivstoffer fra godkendte sprøjtemidler og deres nedbrydningsprodukter efter regelret anvendelse, så Miljøstyrelsen kan sikre hurtig opfølgning, hvis der er overskridelser af kravværdien i grundvand, som understøtter en ændret regulering.

VAP driver 6 forsøgsmarker, hvoraf fem aktivt monitoreres og én er på standby. Markerne varierer i areal fra 1,2 til 2,4 hektar og repræsenterer forskellige typer af klima, geologi og jordbund i Danmark – herunder både sandede marker og opsprækkede lermarker.

De pesticider, der er udvalgt til evaluering i VAP, testes under reelle danske markforhold og monitoreres typisk i en testperiode på to år efter udbringning. En vurdering af den direkte relation mellem den specifikke pesticidanvendelse på en forsøgsmark og fund i grundvandet opnås ved analyse af vandprøver fra én meters dybde (indhentet via dræn og sugeceller), samt fra grundvandet (udtaget i 1,5-7 m dybde) både nedstrøms og opstrøms for forsøgsmarken.

På baggrund af fund og koncentrationsbestemmelse af pesticider og/eller udvalgte nedbrydningsprodukter i grundvandet (i kombination med den testede pesticidanvendelse, afgrødedata, dyrkningspraksis, klima, og jordens vandbalance) leverer VAP en mulighed for tidligt at opdage potentielle grundvandsforurenende pesticider og/eller udvalgte nedbrydningsprodukter.

Afrapportering af VAP-resultater forekommer én gang årligt, men for resultaterne for monitoringsperioderne 2020-2021 og 2021-2022, er det besluttet at de bliver afrapporteret i én samlet rapport i tredje kvartal 2023. Bl.a. derfor udkommer rapporten for perioden 2020-2021 senere end den planlagte udgivelsesdato i november 2022. Idet der i monitoringsperioden 2020-2021 er fundet overskridelser af kravværdien efter anvendelse af cyazofamid, er det besluttet at afrapportere resultaterne for perioden 2020-2022 inden den ordinære udgivelse af den samlede VAP-rapport i tredje kvartal 2023.

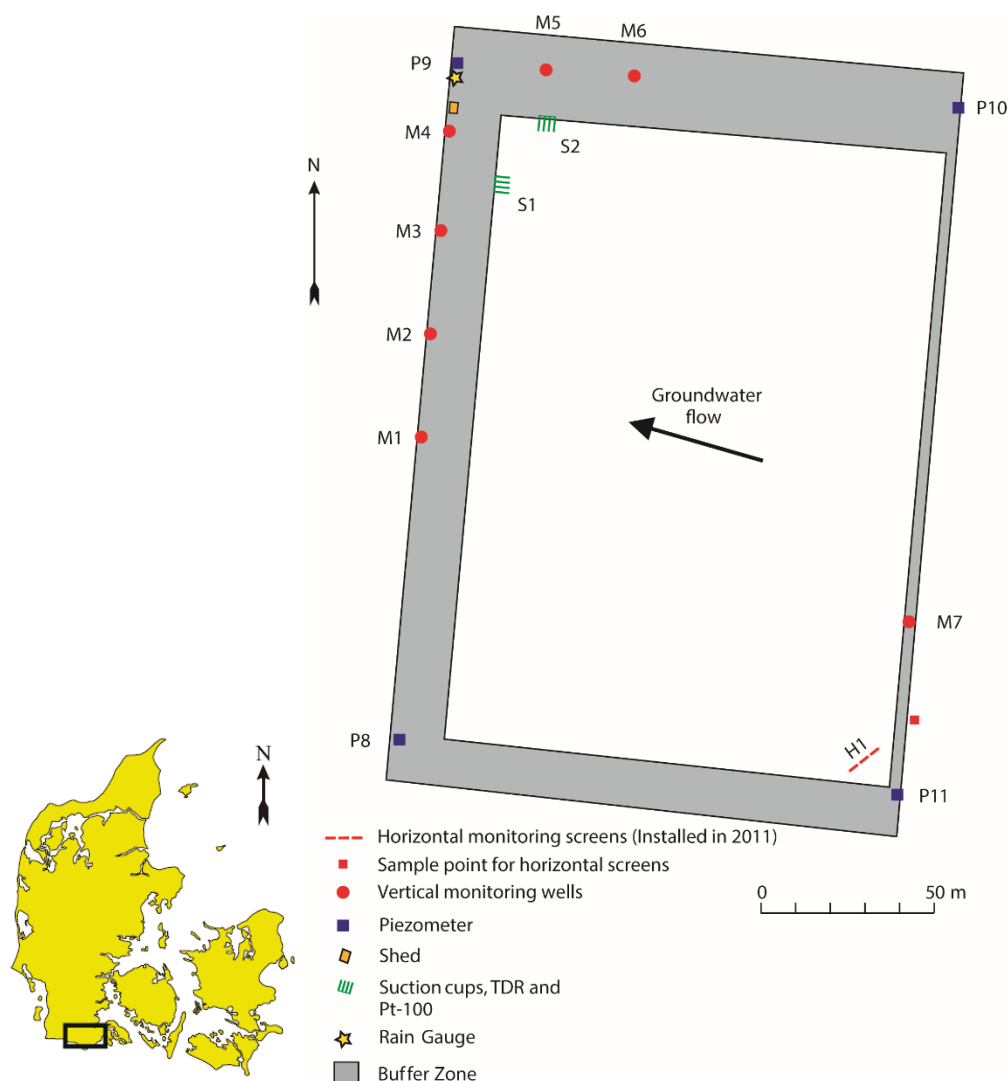
I nærværende rapport præsenteres VAP-resultaterne for monitorering af fire pesticidnedbrydningsprodukter fra aktivstoffet cyazofamid. Testen blev startet i 2020, hvor cyazofamid blev anvendt til bekæmpelse af skimmel i en kartoffelafgrøde. Fire nedbrydningsprodukter var inkluderet i monitoreringen: *N,N*-dimethylsulfamide (DMS, CAS nr. 3984-14-3), *N,N*-dimethylsulfamic acid (DMSA, CAS nr. 6623-40-1), 4-chloro-5-(4-methylphenyl)-1H-imidazole-2-carboxylic acid (CTCA) samt 4-chloro-5-(4-methylphenyl)-1H-imidazole-2-carbonitrile (CCIM), som herefter benævnes hhv. DMS, DMSA, CTCA og CCIM.

Forkortelsen DMSA anvendes også for et andet nedbrydningsprodukt, *N,N*-Dimethyl-*N'*-phenylsulfamide (CAS nr. 4710-17-2) som stammer fra aktivstoffet dichlofluanid (ECHA 2016), hvorfor resultater i indeværende rapport ikke må forveksles med data for dette nedbrydningsprodukt.

Resultaterne repræsenterer analyse af nedbrydningsprodukterne i vandprøver udtaget i henholdsvis sugeceller i den umættede zone og i grundvand. Testen af cyazofamid foregik på VAP-marken i Jyndevad, hvor de øverste jordlag primært består af smeltevandssand. Marken er placeret ved Store Jyndevad i det sydøstlige Sønderjylland og er udstyret med piezometre (P), sugeceller (S1, S2), en horisontal (H1), og syv vertikale (M1-7) grundvandsboringer (Figur 1). Da marken er sandet, er der ikke installeret dræn. For yderligere information om marken og VAP generelt se www.vap-grundvand.dk.

Sideløbende med VAP-monitoringen, blev der udført laboratorieforsøg i form af batch-nedbrydningsforsøg og opsat jordsøjler til undersøgelse af henholdsvis nedbrydningsrater for cyazofamid og DMS samt udvaskning af de fire nedbrydningsprodukter fra cyazofamid.

2. Test af cyazofamid i VAP på Jydevad-marken



Figur 1. VAP-marken i Jydevad med angivelse (på engelsk) af installationer. Vandprøver omtalt i dette notat er udtaget fra sugeceller (suction cups) samt den horisontale (horizontal monitoring screens) og de vertikale monitoringsboringer (monitoring wells).

Cyazofamid er tidligere blevet anvendt på VAP-marken i Jydevad i forbindelse med kartoffelafrøder til bekæmpelse af skimmel. Stoffet er anvendt i 2010, 2014 og 2020, og ved alle tre cyazofamid-anvendelser blev der tilført 80 g/ha cyazofamid pr. sprøjtning, hvilket er maksimalt tilladt dosis iht produktetiketten (BMD 2022).

I 2010 blev der i alt sprøjtet med cyazofamid seks gange i perioden 28. juni til 16. august. Der blev ved hver af de seks sprøjtninger tilført 0,20 L/ha af produktet *Ranman* (400 g/L cyazofamid, reg. nr. 352-3). I forbindelse med denne anvendelse blev der blot monitoreret for cyazofamid. Resultaterne fra denne test kan findes i VAP-rapporten dækkende for monitoringsperioden 1999-2012 (Brüsch et al. (2013), tilgængelig online: www.vap-grundvand.dk)

I 2014 blev marken sprøjtet med cyazofamid to gange, den 30. juli og 7. august. Begge gange blev der tilført 0,20 L/ha af produktet *Ranman* (400 g/L cyazofamid, reg. nr. 352-3). Der blev ikke monitoreret noget stof i forbindelse med denne anvendelse.

I 2020 blev der sprøjtet med cyazofamid seks gange i perioden 14. juni til 10. september. Der blev ved hver af de seks sprøjtninger tilført 0,50 L/ha af produktet *Ranman Top* (160 g/L cyazofamid, reg. nr. 352-8). Koncentrationen af cyazofamid i de seks tankblandinger blev målt og lå i størrelsesordenen 220-330 mg/L med en varians (% CV) på $\pm 17-24$ % fra den teoretiske koncentration (Tabel 1, Bilag 1). Der blev ikke analyseret for de fire nedbrydningsprodukter i tankblandingerne i forbindelse med sprøjtningerne i Jyndeved. Det har i VAP ikke været kutyme at analysere tankblandingsprøverne for andet end aktivstofferne. I forbindelse med 2020-testen, affødte resultaterne fra monitoreringen dog usikkerhed om, hvorvidt nedbrydningsprodukterne blev dannet i sprøjtetanken inden sprøjtning. Der blev derfor lavet en ekstra tankblanding den 22. juni 2022 på Flakkebjerg, som blev analyseret både for cyazofamid og de fire nedbrydningsprodukter (Tabel 1). Denne tankblanding blev ikke sprøjtet på Jyndeved. Koncentrationen af cyazofamid i denne tankblanding var 290 mg/L og dermed i overensstemmelse med det målte koncentrationsinterval fra de seks tidligere tankblandingsprøver (Bilag 1). Prøven antages derfor at være repræsentativ for de seks tankblandinger, der blev anvendt på VAP-marken i Jyndeved. Yderligere information om tankblandingerne findes i Bilag 1.

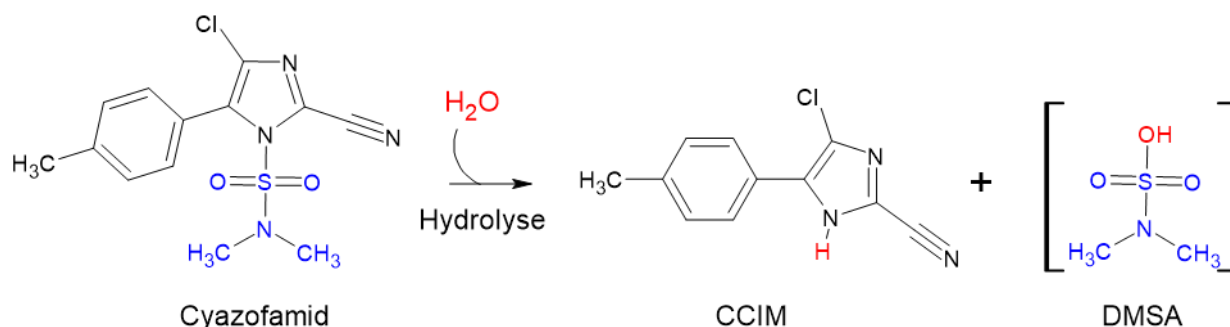
Tabel 1. Indhold af aktivstof og nedbrydningsprodukter i tankblandingen fra 22. juni 2022. Prøven er ikke udtaget i forbindelse med cyazofamid-anvendelse på Jyndeved. Prøven blev lavet med formålet at analysere indholdet af de fire nedbrydningsprodukter i en tankblanding. Koncentrationen omregnet til milimolær samt det procentvise indhold af nedbrydningsprodukterne i forhold til cyazofamid (indholdet af cyazofamid er beregnet som indholdet af CCIM + cyazofamid).

Analyt	µg/L	g/L	g/mol	mol/L	mM	% µg/L	% mM
Cyazofamid	290000	0,29	324,8	0,00089	0,89	-	-
CCIM	43500	0,0435	215,7	0,00020	0,20	13,0	18,4
DMSA	4340	0,00434	125,2	0,00003	0,03	1,3	3,2
CTCA	< 100*	< 0,1	236,7	-	-	-	-
DMS	< 100*	< 0,1	124,2	-	-	-	-

* DL er angivet som < 100 µg/L i den ufortyndede tankblanding, hvilket svarer til en DL på 0,01 µg/L i den fortyndede prøve (fortyndingsfaktor 10.000)

Nedbrydningsproduktet CCIM dannes i planter ved simpel hydrolyse af sulfonamid-gruppen i cyazofamid som vist i Figur 2 (EFSA, 2020). Dannelsesprocenten for CCIM er oplyst til 3-7,4 % i plantemateriale, hvilket er 3-9 gange lavere end den observerede fraktion af CCIM (18%), der er målt i tankblandingsprøven. Det vil sige, at 18% af det opblandede cyazofamid er hydrolyseret til CCIM allerede inden blandingen sprøjtes på marken. I henhold til US-EPA faktablad for cyazofamid (US-EPA 2004) er CCIM ligeledes det forventede nedbrydningsprodukt, der fremkommer ved hydrolyse af cyazofamid i akvatiske miljøer.

Ved hydrolyse af cyazofamid dannes CCIM og DMSA teoretisk set i forholdet 1:1 (Figur 2), det vil sige, at den molære koncentration og dannelsesprocent for de to nedbrydningsprodukter skulle ligge i samme niveau. Dette er ikke tilfældet i tankblandingen, hvor DMSA-fraktionen er 3,2% (Tabel 1). Det kunne indikere, at DMSA enten nedbrydes hurtigere end CCIM, eller at det ikke udelukkende er hydrolytisk kløvnings af cyazofamid, der finder sted i tanken. Den procentvise fraktion af DMSA i tankblandingen er beregnet ud fra den molære koncentration af cyazofamid plus CCIM under antagelse af, at CCIM dannes hurtigt, men omdannes langsommere end DMSA og derfor sammen med indholdet af cyazofamid repræsenterer det oprindeligt tilsatte cyazofamid. DMSA er hverken i EFSA-konklusionen eller i US-EPA-faktabladet for cyazofamid nævnt som hydrolyseprodukt.



Figur 2. Foreslået hydrolyse af cyazofamid og dannelse af hydrolyseprodukterne CCIM og DMSA. CCIM er beskrevet som hydrolyseprodukt fra cyazofamid i EFSA-konklusionen på cyazofamid (EFSA 2020). DMSA er ikke tidligere beskrevet som hydrolyseprodukt fra cyazofamid.

2.1 Udvælgelse af stoffer til monitorering

De to nedbrydningsprodukter CTCA og CCIM er i EFSA-konklusionen på cyazofamid (EFSA, 2020) defineret som "*major metabolites*" og derfor medtaget i monitoreringen. DMSA er kun nævnt i EFSA-konklusionen i forbindelse med et akut oralt toksicitets- og et *in vitro* bakterielt mutations-forsøg, hvor toksiciteten for bl.a. DMSA er testet. DMSA er ikke tidligere nævnt som nedbrydningsprodukt fra cyazofamid i nedbrydningsstudier med jord. Tilsvarende er DMS ikke nævnt som nedbrydningsprodukt fra cyazofamid i EFSA-konklusionen men inkluderet i monitoreringen, da GEUS i forbindelse med metodeudviklingen i forskningsprojektet "TriaFung" (finansieret af Miljøstyrelsens program for Bekæmpelsesmiddelforskning; J.nr. 667-00200) tidligere har målt lave koncentrationer af DMS i grundvand fra marken.

Der blev i hele monitoringsperioden, 2020-2022, monitoreret for de fire nedbrydningsprodukter: CTCA, CCIM, DMS og DMSA i vand fra sugeceller og grundvand. Der er ikke monitoreret for cyazofamid i forbindelse med denne test.

Da monitoreringen i VAP startede i april 2020, var metoderne til analyse af DMSA, CTCA og CCIM ikke klar, hvorfor prøverne i en periode blev frosset ned. Effekten af nedfrysning kendes ikke endnu, men vil blive undersøgt indenfor den nærmeste fremtid. En kendt effekt af nedfrysning er, at relativt ustabile stoffer vil kunne gå i stykker og deres koncentration derved underestimeres.

3. Resultater af monitoring af nedbrydningsprodukter fra cyazofamid

Inden første sprøjtning med cyazofamid i juni 2020 blev der udtaget baggrundsprøver fra sugeceller og borer af tre omgange, startende i april 2020. Ud af 31 baggrundsprøver findes DMS i 3 prøver. Alle resultater for DMS og DMSA, inklusive baggrundsprøverne, er vist i figurene for hver enkelt boring i nedenstående.

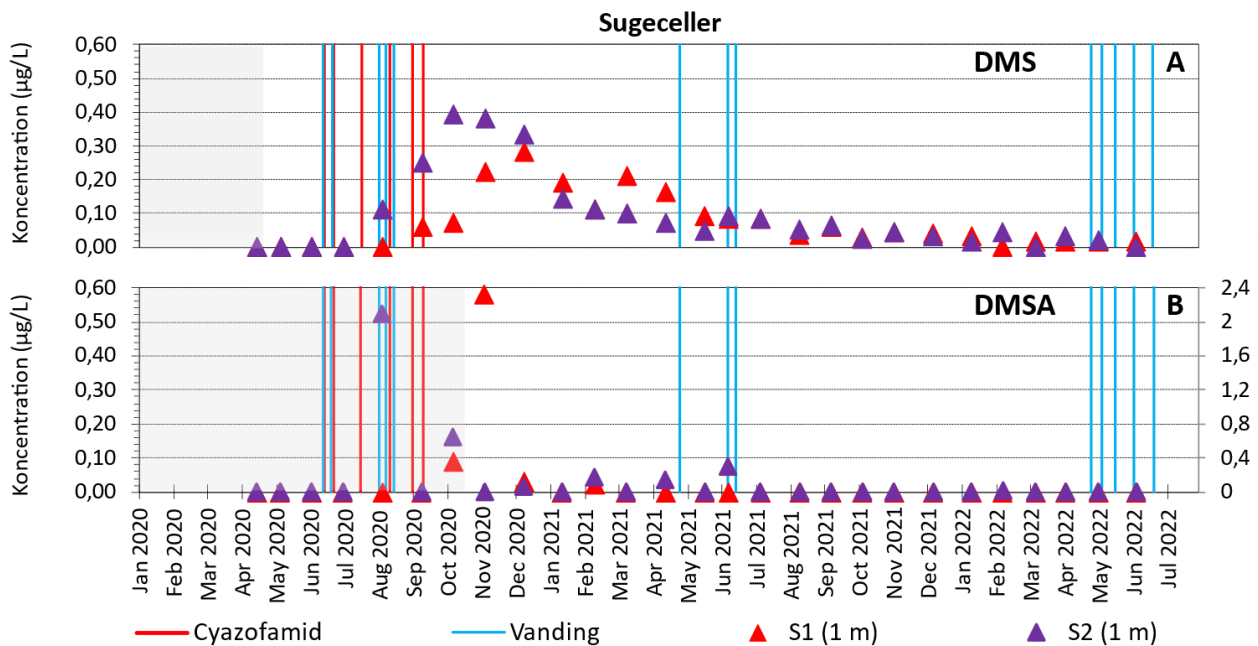
Tabel 2 viser en oversigt over antal prøver og fund i de forskellige typer udtag på Jyndeved i perioden april 2020 til og med juni 2022. I alt er der udtaget 265 vandprøver, hvoraf DMS blev detekteret i 122 prøver (46%) og DMSA i 71 prøver (27%). De to nedbrydningsprodukter CCIM og CTCA blev ikke detekteret i monitoringsperioden. Vandprøverne er indsamlet fra sugeceller i 1 meters dybde, og i de vertikale borer M1, M2, M4, M5, og M7, samt den horisontale boring, H1 (Figur 1).

Tabel 2. Antal prøver og fund på Jyndeved i hhv. sugeceller (S), vertikale borer (M) og den horisontale boring (H). Optællingen indeholder alle prøver udtaget fra april 2020 til og med juni 2022 (inklusive tre prøvetagninger inden første sprøjtning med cyazofamid 14. juni 2020).

	Total			S			M			H			Total Grundvand (M+H)		
	n	Det.	>0,1 µg/L	n	Det.	>0,1 µg/L	n	Det.	>0,1 µg/L	n	Det.	>0,1 µg/L	n	Det.	>0,1 µg/L
DMS	265	122	56	54	42	13	195	66	36	16	14	7	211	80	43
DMSA	265	71	44	54	11	6	195	56	35	16	4	3	211	60	38
CCIM	265	0	0	54	0	0	195	0	0	16	0	0	211	0	0
CTCA	265	0	0	54	0	0	195	0	0	16	0	0	211	0	0

3.1 Sugeceller

Sugecellerne er placeret to steder i kanten af marken og vandet indsamlet fra sugecellerne repræsenterer vandet, der er strømmet fra marken og ned gennem jordsøjlen (Figur 1). Analyser fra sugecellerne i 1 meters dybde viser, at DMS detekteres i august og september 2020, hvilket svarer til 2-3 måneder efter den første cyazofamid-anvendelse i juni 2020. Efter de første detektioner måles generelt stigende DMS-koncentrationer frem til december 2020, hvorefter koncentrationerne aftager (Figur 3A). Der måles relativt høje koncentrationer med maksimale koncentrationer op til ca. 0,4 µg/L i perioden august 2020 til april 2021. Efter april 2021 aftager koncentrationerne til mindre end 0,1 µg/L og aftager fortsat mod den seneste prøvetagning i juni 2022.



Figur 3. DMS- og DMSA-koncentrationer målt i sugecellerne, S1 og S2. A, viser målte DMS-koncentrationer og B, viser målte DMSA-koncentrationer. I plot B repræsenterer den sekundære y-akse koncentrationer for S2, hvor maksimal koncentrationen er målt til 2,1 µg/L. De gråskravrede områder viser perioder, hvor prøver har været frosset ned inden analyse. Røde lodrette streger repræsenterer sprøjtninger med cyazofamid og blå streger vanding af marken.

DMSA-analyser fra sugecellerne viser de første detektioner i august og oktober 2020, hvilket svarer til 2-4 måneder efter den første anvendelse af cyazofamid i juni 2020 (Figur 3B). I modsætning til DMS-koncentrationerne er der ikke tydeligt stigende koncentrationer af DMSA over flere måneder, men de maksimale koncentrationer for DMSA er betydeligt højere. Den maksimale DMSA-koncentration på 2,1 µg/L i S2 er ca. en faktor 5 højere end den maksimalt målte DMS-koncentration i sugecellerne. Efter november 2020 detekteres DMSA få gange i koncentrationer mindre end 0,1 µg/L frem mod den sidste prøvetagning i juni 2022.

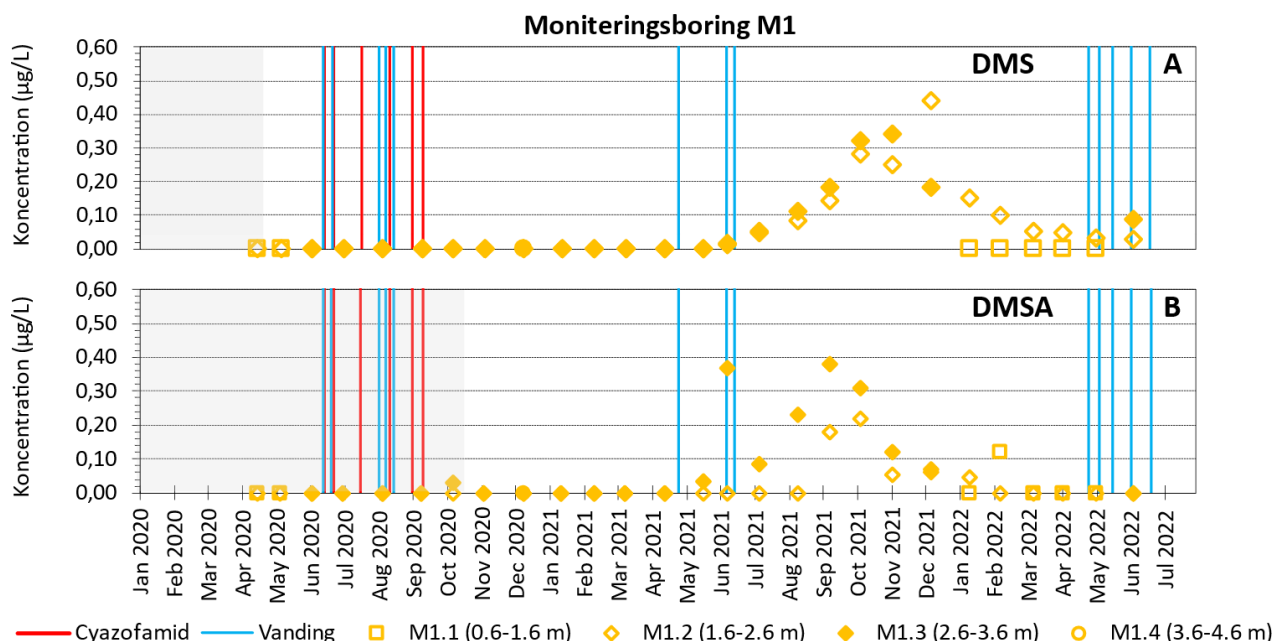
3.2 Monitoringsboringer

Boring M1, M2, og M4 er såkaldte nedstrømsboringer, hvilket betyder at borerne repræsenterer vand, der er strømmet fra marken og det underliggende grundvand hen mod borerne. Boring M5 er også en nedstrømsboring, der dog ligger i periferien af strømningsfeltet (jf. Figur 1). Det vil sige, at boring M5 formodes at modtage et mindre bidrag fra marken sammenlignet med borerne M1-M4. Boring H1 er en horisontal boring, der ligger under marken og således modtager vand fra marken og det underliggende grundvand. Boring M7 er en såkaldt opstrømsboring, hvilket betyder, at boringen repræsenterer vand og grundvand, der strømmer mod marken fra området øst for marken (Figur 1).

Monitoringsboring M1

Grundvandsprøver fra boring M1 viser, at DMS og DMSA detekteres i relativt høje koncentrationer, der ligger over kravværdien på 0,1 µg/L med maksimale koncentrationer på henholdsvis 0,44 og 0,38 µg/L (Figur 4). Fra juni 2021, ca. et år efter den første cyazofamid-anvendelse, detekteres DMS for første gang, hvorefter der observeres en puls af DMS med en varighed på et år frem til den seneste prøvetagning i juni 2022 (Figur 4A). Gennembruddet af DMS i en koncentration, der overstiger kravværdien på 0,1 µg/L, sker 15 mdr. (august 2021) efter den første anvendelse af cyazofamid i juni 2020. Fra august 2021, stiger de målte DMS-koncentrationer mod det generelle maksimum omkring midten af oktober 2021, hvorefter

koncentrationerne er faldende. Dog er der i en seks måneders periode fra august 2021 til januar 2022 konstante detektioner af DMS i koncentrationer, som overstiger kravværdien, både i boring M1.2 og M1.3 (Figur 4A). Der er ingen DMS-detektioner fra en meters dybde (boring M1.1) fra januar 2022 til den seneste prøvetagning i juni 2022 og detektionerne fra 2 og 3 meters dybde (hhv. boring M1.2 og M1.3) er mindre end 0,1 µg/L i samme periode.



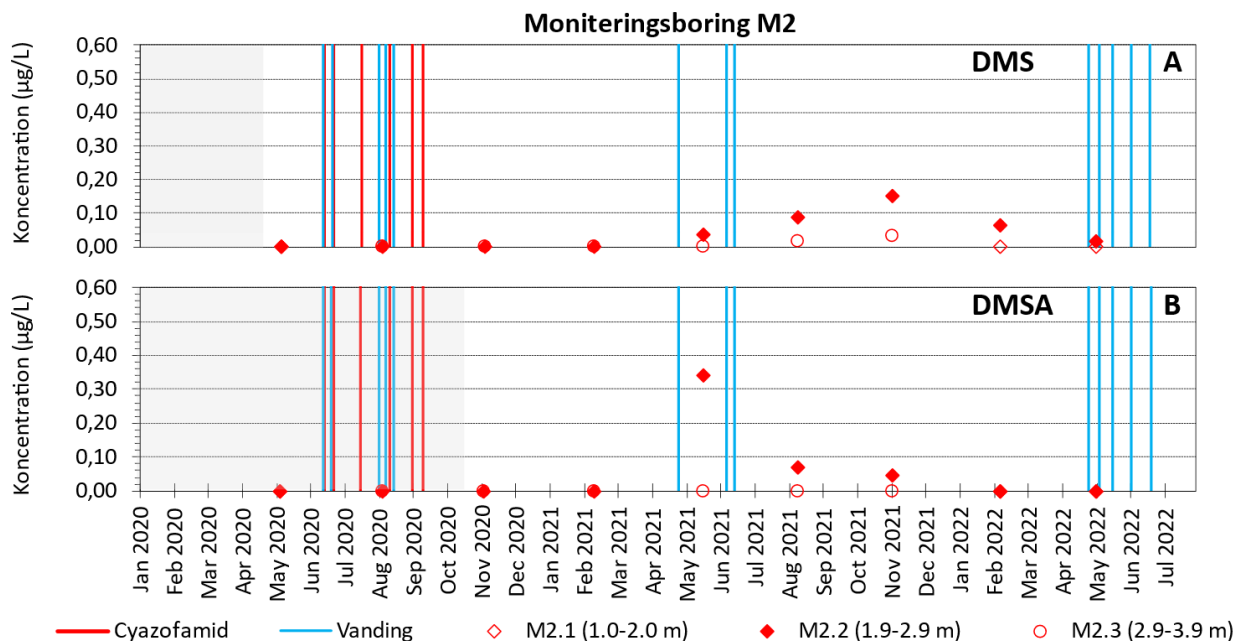
Figur 4. DMS- og DMSA-koncentrationer målt i boring M1 på Jyndeved. A, viser målte DMS-koncentrationer og B, viser målte DMSA-koncentrationer. De gråskraverede områder viser perioder, hvor prøver har været frosset ned inden analyse. Røde lodrette streger repræsenterer sprøjtninger med cyazofamid og blå streger vanding af marken.

Gennembruddet af DMSA i koncentrationer, der overstiger kravværdien på 0,1 µg/L, sker ca. et år (juni 2021) efter den første anvendelse af cyazofamid i juni 2020. DMSA-detektioner i koncentrationer over kravværdien detekteres således ca. 3 måneder hurtigere i forhold til de målte DMS-koncentrationer over kravværdien. Fra juni 2021 stiger de målte DMSA-koncentrationer mod et maksimum (på 0,38 µg/L) i september 2021, hvorefter koncentrationerne generelt er faldende. Således er der i en seks måneders periode fra juni til november 2021 konstante detektioner af DMSA med koncentrationer, der overstiger kravværdien (Figur 4B). Fra december 2021 til den seneste prøvetagning i juni 2022, er DMSA koncentrationerne generelt faldende, som fra marts 2022 resulterer i nul-detektioner.

Moniteringsboring M2

Grundvandsprøver fra boring M2 viser, at DMS i koncentrationer over kravværdien detekteres i én prøve 16 mdr. (november 2021) efter den første cyazofamid-anvendelse i juni 2020 (Figur 5A). DMS-koncentrationen i prøven er 0,15 µg/L. Den første detektion af DMS sker i maj 2021, ca. et år efter den første anvendelse af cyazofamid, hvilket også observeres i boring M1. Det bemærkes, at prøvetagningsfrekvensen i boring M2 er kvartalsvis i modsætning til borerne M1, M4, og M7, hvor der prøvetages på månedsbasis. Dog ses der på baggrund af de kvartalsvise prøvetagninger en puls af DMS fra maj 2021 frem til den seneste prøvetagning i maj 2022 (Figur 5A). Varigheden af pulsen med DMS-detektioner i boring M2 svarende til et år er sammenlignelig med den observerede DMS-puls i boring M1 (Figur 4A).

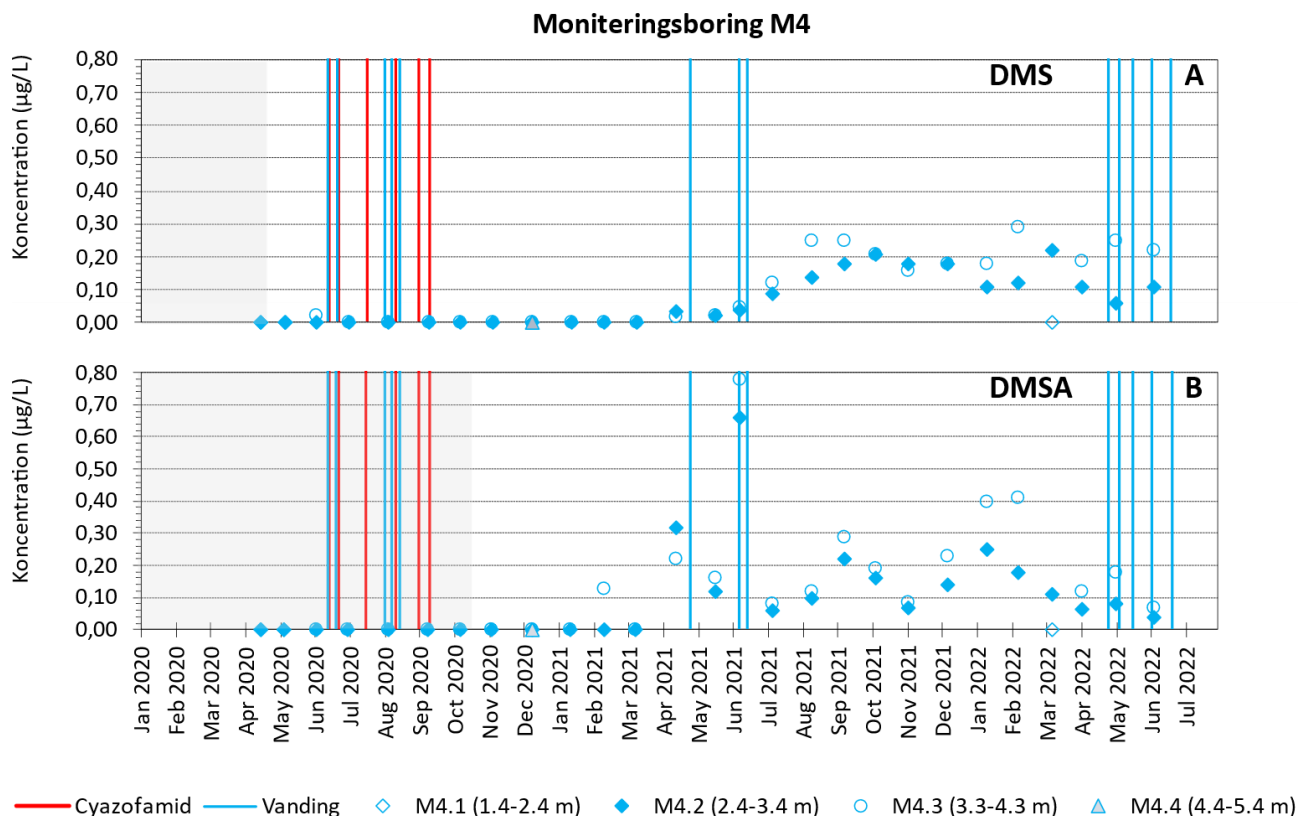
DMSA detekteres i boring M2 fra maj til november 2021 og den maksimale koncentration på 0,34 µg/L er målt i maj 2021. Prøven fra maj 2021 er den eneste af prøverne, hvor kravværdien er overskredet.



Figur 5. DMS- og DMSA-koncentrationer målt i boring M2 på Jyndeved. A, viser målte DMS-koncentrationer og B, viser målte DMSA-koncentrationer. De gråskraverede områder viser perioder, hvor prøver har været frosset ned inden analyse. Røde lodrette streger repræsenterer sprøjtninger med cyazofamid og blå streger vandring af marken.

Moniteringsboring M4

Grundvandsprøver fra boring M4 viser, at DMS og DMSA detekteres i relativt høje koncentrationer med maksimale koncentrationer på henholdsvis 0,29 og 0,78 µg/L (Figur 6). Fra april 2021 frem til den seneste prøvetagning i juni 2022, er der konstante detektioner af DMS (Figur 6A). Gennembruddet af DMS i koncentrationer, der overstiger kravværdien på 0,1 µg/L, sker 14 mdr. (juli 2021) efter den første anvendelse af cyazofamid i juni 2020. I perioden fra juli 2021 til juni 2022, svarende til et år, indeholder generelt alle grundvandsprøver (22 ud af 24) DMS i koncentrationer, der overstiger kravværdien. Maksimumværdien for DMS detekteres i februar 2022 (Figur 6A). I modsætning til boring M1, hvor der ses en relativt afgrænset puls af DMS (Figur 4A), er der endnu ikke tydelige tegn på aftagende koncentrationer, idet de målte koncentrationer i boring M4 varierer betragteligt fra januar til juni 2022 (Figur 6A).

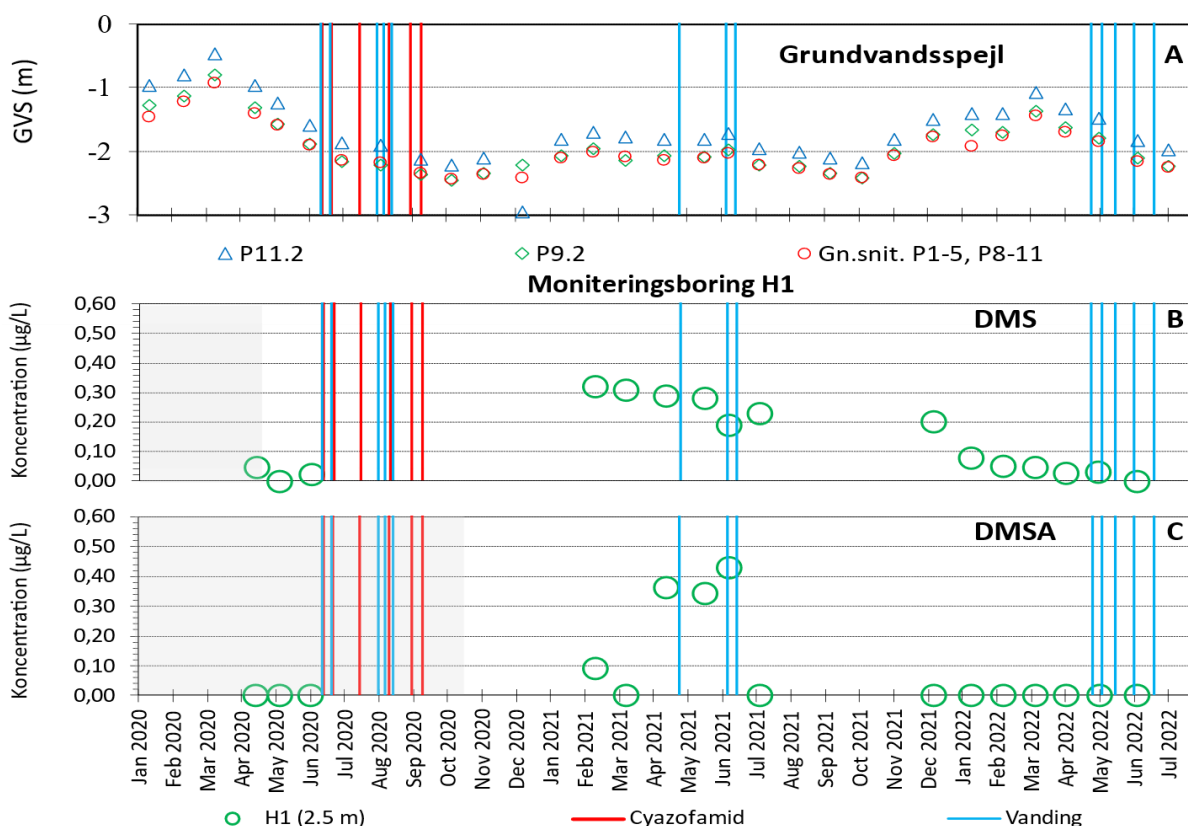


Figur 6. DMS- og DMSA-koncentrationer målt i boring M4 på Jyndeved. A, viser målte DMS-koncentrationer og B, viser målte DMSA-koncentrationer. De gråskraverede områder viser perioder, hvor prøver har været frosset ned inden analyse. Røde lodrette streger repræsenterer sprøjtninger med cyazofamid og blå streger vanding af marken.

DMSA detekteres i grundvandsprøver fra boring M4 fra februar 2021. Herefter detekteres DMSA igen i april 2021, hvorefter DMSA generelt detekteres konstant (27 ud af 28 grundvandsprøver) frem til den seneste prøvetagning i juni 2022. I forhold til overskridelser af kravværdien, er der fra perioden april 2021 til juni 2022 overskridelser i 18 ud af 28 analyser (Figur 6B). Yderligere måles i juni 2021 maksimale DMSA-koncentrationer, der er væsentlige højere relativt til de resterende målinger. På baggrund af de målte DMSA-koncentrationer, er der heller ikke tydelige tegn på aftagende koncentrationer endnu, idet koncentrationerne ikke entydigt er faldende fra april til juni 2022.

Moniteringsboring H1

Grundvandsprøver fra boring H1 er indsamlet i varierende interval, idet der i perioder under den månedlige prøvetagning ikke har været vand i boringen. Ved sammenstilling af det målte grundvandsspejl i forskellige observationsboringer (Figur 7A) og analyser fra de indsamlede vandprøver (Figur 7B og C) fremgår det, at der ikke kan indsamles grundvandsprøver til analyse, når grundvandet generelt er mere end 2 meter under terræn. Først i februar 2021, har det været muligt at tage den første grundvandsprøve efter den første cyazofamid-anvendelse i juni 2020, og her måles den maksimale DMS-koncentration på 0,32 µg/L. Den målte koncentration af DMS, fra boring H1 i februar 2021, er den første detektion af DMS i en grundvandsprøve efter den første cyazofamid-anvendelse i juni 2020 (Figur 7A). Dette svarer til, at DMS detekteres efter 8 mdr. i boring H1, mens DMS generelt detekteres efter et år i de andre grundvandsboringer (se f.eks. Figur 4A). Fra februar til december 2021, i en periode svarende til 10 måneder, er der konstante detektioner over kravværdien i alle grundvandsprøver fra boring H1. Overordnet detekteres der et aftagende indhold af DMS efter februar 2021, og fra januar til juni 2022 er de målte koncentrationer under kravværdien.

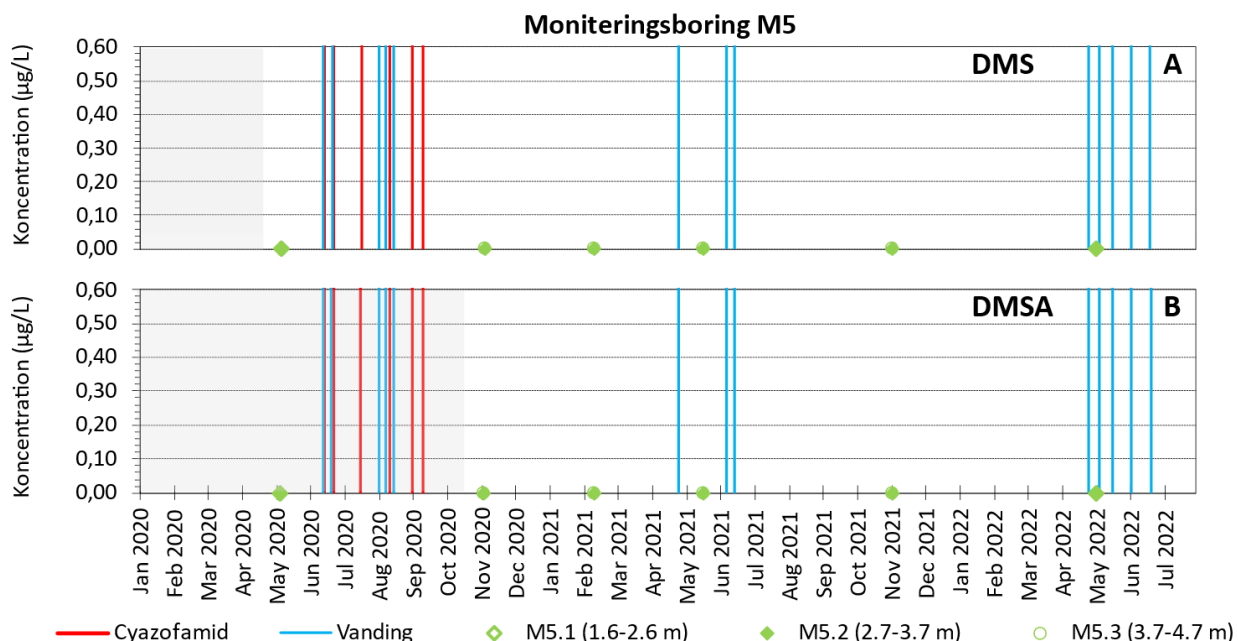


Figur 7. Grundvandsspejlmålinger fra diverse borer og DMS- og DMSA-koncentrationer målt i boring H1 på Jyndeved. A, viser det målte grundvandsspejl i meter under terræn. B, viser målte DMS-koncentrationer og C, viser målte DMSA-koncentrationer. De gråskraverede områder viser perioder, hvor prøver har været frosset ned inden analyse. Røde lodrette streger repræsenterer sprøjtninger med cyazofamid og blå streger vanding af marken.

I boring H1 detekteres DMSA også først i februar 2021 ved den første mulige prøvetagning efter den første cyazofamid-anvendelse i juni 2020. Efterfølgende detekteres DMSA konstant i grundvandsprøver fra april til juni 2021, hvor kravværdien er overskredet i samtlige prøver. Den maksimale DMSA-koncentration på 0,43 µg/L er målt i juni 2021 (Figur 7B). Efterfølgende er der ikke flere DMSA-detektioner i grundvandsprøverne fra H1.

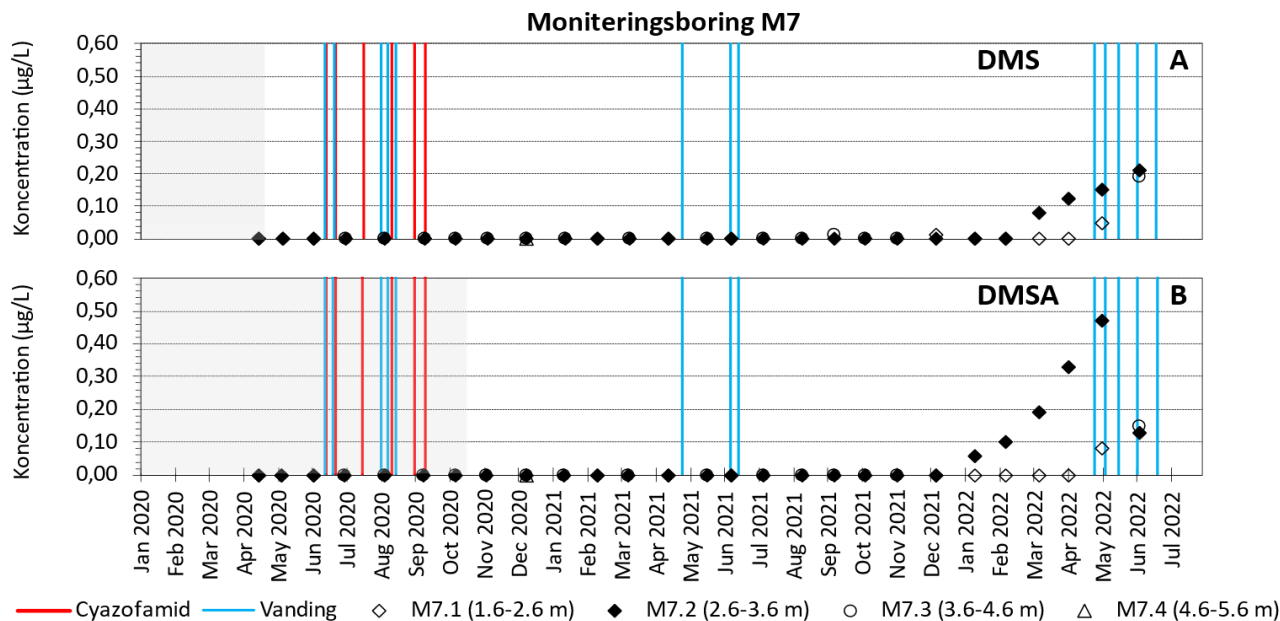
Moniteringsboring M5

I boring M5 varierer prøvetagningen mellem at være kvartalsvis og halvårlig. I boring M5 detekteres hverken DMS eller DMSA i nogle af de indsamlede grundvandsprøver (A og B). Således er analyserne fra boring M5 markant anderledes sammenlignet med analyserne fra borerne M1, M2, M4, og H1, som alle har detektioner af både DMS og DMSA.



Figur 8. DMS- og DMSA-koncentrationer målt i boring M5 på Jyndevad. A, viser målte DMS-koncentrationer og B, viser målte DMSA-koncentrationer. De gråskraverede områder viser perioder, hvor prøver har været frosset ned inden analyse. Røde lodrette streger repræsenterer sprøjtninger med cyazofamid og blå streger vanding af marken.

Moniteringsboring M7. Grundvandsprøver fra boring M7, som er en opstrømsboring, viser også detektioner af DMS og DMSA med maksimale koncentrationer på henholdsvis 0,21 og 0,47 µg/L (Figur 9A og B). Fra boring M7.2, som repræsenterer en filtersætning ca. 3 meter under terræn, er der indsamlet grundvandsprøver kontinuerligt gennem hele monitoringsperioden. På baggrund af analyserne fra filter M7.2 fremgår det, at DMS og DMSA detekteres henholdsvis 21 (marts 2022) og 19 (januar 2022) måneder efter den første cyazofamid-anvendelse i juni 2020. Efter de første detektioner er DMS-koncentrationerne stigende frem til den seneste prøvetagning i juni 2022, mens DMSA-koncentrationerne når maksimum i maj 2022. DMS- og DMSA-detektionerne i boring M7 sker markant senere end i de andre grundvandsboringer, hvor der er påvist DMS og DMSA. I de resterende grundvandsboringer detekteres DMS og DMSA ca. et år efter den første cyazofamid-anvendelse.



Figur 9. DMS- og DMSA-koncentrationer målt i boring M7 (opstrømsboring) på Jydevad. A, viser målte DMS-koncentrationer og B, viser målte DMSA-koncentrationer. De gråskraverede områder viser perioder, hvor prøver har været frosset ned inden analyse. Røde lodrette streger repræsenterer sprøjtninger med cyazofamid og blå streger vanding af marken.

3.3 Vandingsvand

Vand til markvanding på VAP-marken i Jydevad hentes fra 4 borer øst og nordøst for marken. Boringen tættest på befinder sig 2-300 m mod øst, som er opstrøms for marken, og den er filtersat fra 15,5 til 21,5 m under terræn. De øvrige borer befinder sig 500-1000 m væk (Tabel 3, Figur 10). Det kan normalt ikke afgøres, hvilken specifik boring, vandet hentes fra, da pumperne i de 4 borer er serieforbundet. Dog blev prøven d. 19. maj 2022 specifikt udtaget fra den nærmeste markvandingsboring (Figur 10, DGU nr. 167.1089).

Tabel 3. Markvandingsboringer omkring Jydevad. Vand til vanding af marken er normalt blandet fra alle 4 borer.

DGU-nummer	Dybde (m)	Filtersætning (m.u.t.)	Geologi	Placering ift. VAP-mark
167.513	7,5	?	?	1000 m NNØ
167.973	20	10-20	Smeltevandssand	800 m NNØ
167.892	7,5	?	?	500 m NØ
167.1089	22	15,5-21,5	Smeltevandssand	2-300 m Ø

Prøver af vandingsvandet anvendt på marken er udtaget ved 6 lejligheder i 2020, 2021 og 2022 (

Tabel 4). DMS blev detekteret i 5 ud af 6 prøver, DMSA i 1 ud af 6 prøver, mens CCIM og CTCA ikke blev detekteret. Koncentrationen af DMS var mellem 0,011 µg/L og 0,027 µg/L, mens DMSA blev detekteret med en koncentration på 0,02 µg/L (bemærk at detektionsgrænsen for DMSA er = 0,02 µg/L).

Analyserne af vandingsvandet tyder på, at der er lave koncentrationer af DMS, og måske i mindre grad DMSA, i grundvandet i området omkring Jydevad-marken.

Tabel 4. Prøver af vandingsvand udtaget på Jydevad 2020-2022. Se Figur 10 for placering af markvandingsboringer. Bemærk, at der er forskellige detektionsgrænser, DL, for DMS (DL = 0,01 µg/L) og DMSA (DL = 0,02 µg/L).

Dato	DMS, koncentration (µg/L)	DMSA, koncentration (µg/L)
07-06-2020	0,011	< 0,02
03-08-2020	0,011	< 0,02
27-04-2021	< 0,01	< 0,02
16-06-2021	0,027	< 0,02
28-04-2022	0,021	0,02
19-05-2022*	0,014*	< 0,02*

*Udtaget i DGU nr. 167.1089, som ligger tættest på marken.



Figur 10. VAP-marken i Jydevad med omkringliggende marker. Gule stjerner markerer beliggenheden af de 4 markvandingsboringer. Fra nord til syd er det DGU-boring 167.513, 167.973, 167.892 og 167.1089. Blå pil markerer grundvandets generelle strømningsretning.

4. Diskussion af monitoringsresultater fra VAP

I alle grundvandsboringer, hvor der detekteres DMS, er der tilsvarende konsekvent detektioner af DMSA og vice versa (Figur 4-6 og Figur 9). Både DMS og DMSA detekteres i koncentrationer, som overstiger kravværdien på 0,1 µg/L. Samtidig er det relativt høje koncentrationer, i nogle tilfælde op mod en faktor 5 højere end kravværdien. I alle grundvandsboringer, hvor der er detektioner af DMS og DMSA, er der generelt tydelige tegn på, at DMSA findes over kravværdien før DMS findes over kravværdien. Eksempelvis detekteres DMSA over kravværdien ca. tre mdr. før DMS detekteres over kravværdien i boring M1 (Figur 4) og ca. fem mdr. før DMS detekteres i boring M4 (Figur 6). Perioden, hvori målte koncentrationer af DMS og DMSA overstiger kravværdien, varierer i de forskellige boringer. Dog lader der til at være en tendens til, at varigheden af pulsen med DMS-detektioner er længere end for DMSA. I boring M1 detekteres DMS eksempelvis i koncentrationer større end kravværdien gennem ca. et år (Figur 4A) mens DMSA detekteres i koncentrationer større end kravværdien gennem ca. et halvt år (Figur 4B). Ved den seneste prøvetagning i juni 2022 var de målte DMS- og DMSA-koncentrationer under 0,1 µg/L i boring M1. I boring M4, hvor DMS også er målt i koncentrationer større end kravværdien gennem ca. et år, er der ved den seneste prøvetagning endnu DMS-detektioner over kravværdien (Figur 6A). I boring M4, er målte DMSA-koncentrationer ikke på samme måde konstant, men DMSA måles i størstedelen af prøverne over kravværdien gennem det seneste år (Figur 6B).

Moniteringen fra boring M2 viser, at DMS- og DMSA-detektionerne ikke er sammenlignelige med boring M1 og M4 i forhold til antal af fund over kravværdien og størrelsesorden. Således er der i boring M2 blot én detektion af DMS og DMSA over kravværdien (Figur 5), mens der i boring M1 og M4 generelt er konstante detektioner over kravværdien gennem ca. et halvt til et helt år. Desuden er det målte maksimale koncentrationsniveau af DMS i boring M2 0,15 µg/L, hvilket er væsentligt lavere sammenlignet med maksimalkoncentrationerne i boring M1 og M4 med hhv. 0,44 og 0,29 µg/L. En af årsagerne til, at detektionerne i boring M2 adskiller sig fra boring M1 og M4, kan være, at prøvetagningsfrekvensen er reduceret i boring M2. Prøvetagningen i boring M2 er kvartalsvis, hvorfor der ikke er indsamlet det samme antal prøver til analyser, som det er gjort i M1 og M4, hvor prøvetagningen foregår på månedsbasis. Således er det muligt, at der i boring M2 ikke er blevet prøvetaget i perioder, hvor der potentielt kunne være høje DMS- og DMSA-koncentrationer tilstede.

I den horisontale grundvandsboring H1 beliggende under marken, detekteres DMS tidligere i koncentrationer over kravværdien relativt til de andre grundvandsboringer. I boring H1 detekteres DMS ca. 8 mdr. efter den første cyazofamid-anvendelse (Figur 7A), mens der generelt går et år før DMS detekteres over kravværdien i de resterende grundvandsboringer (f.eks. Figur 4A). Årsagen til, at DMS observeres tidligere i boring H1, er, at H1 er beliggende direkte under marken, hvortil transporttiden er relativt kort, sammenlignet med boringerne M1, M2, og M4, der er placeret i bufferzonen ca. 15-20 meter nedstrøms for det dyrkede areal af marken (Figur 1). Potentielt kan DMS være til stede i grundvandet under marken før de observerede fund. Dette er ikke muligt at verificere, idet grundvandsspejlet lå dybere end filtersætningen i boring H1 i perioden op til det første fund. Dog viser tidligere tracerforsøg med bromid, at maksimale bromidkoncentrationer i boring H1 blev fundet ca. 5 mdr. efter udbringning, mens der i de resterende nedstrømsboringer gik ca. 14 mdr. (Badawi et al., 2022).

I boring M5 ses ingen detektioner af DMS og DMSA (Figur 8). Dette skyldes, at boringen ikke i samme grad som boringerne, M1, M2, M4, og H1 repræsenterer vandet, der strømmer fra marken til grundvandet. Som nævnt ovenfor under resultatbeskrivelsen, formodes det således ikke, at M5 i samme grad repræsenterer strømningsfeltet fra marken. Dette underbygges af tidligere tracerforsøg med bromid, hvor detektionerne

adskiller sig væsentligt fra de resterende nedstrømsboringer (Figur B1, Bilag 1). I boring M5 viser detektionerne af bromid, der antages at være en konservativ tracer, i overensstemmelse med dette generelt lavere koncentrationsniveau sammenlignet med de andre nedstrømsboringer.

I boring M7 detekteres både DMS og DMSA. Det fremgår, at DMSA detekteres før DMS, hvilket også observeres i de resterende grundvandsboringer med detektioner. Principielt bør der ikke detekteres DMS eller DMSA i boring M7, da denne anses for at være en opstrømsboring. Som nævnt ovenfor betyder det, at boringen repræsenterer vand og grundvand, der strømmer mod marken og derfor ikke er påvirket af vand fra marken. For at forklare detektionerne af DMS og DMSA, er det derfor undersøgt, hvilke afgrøder, der er dyrket og hvilke pesticidprodukter, der er indberettet til Miljøstyrelsens IT-system SJI. Til SJI indberettes, hvilke pesticidprodukter, der er anvendt på den samlede bedrift i en given afgrøde. På nabomarken umiddelbart øst for VAP-marken, som altså ligger opstrøms, blev der i 2021 dyrket kartofler, og der er på bedriften anvendt et produkt med cyazofamid i kartofler. Hvis der har været en anvendelse af cyazofamid specifikt på nabomarken og den har fundet sted omkring sommeren 2021, passer det med at stofferne detekteres i begyndelsen af 2022, da transporttiden for DMS og DMSA til boring M7 forventeligt vil være kortere, end hvad der er observeret i nedstrømsboringerne på VAP-marken. Det skyldes, at afstanden fra boring M7 til nabomarken er kortere end afstanden fra VAP-marken til nedstrømsboringerne (Figur 10). På baggrund af dette, er det derfor sandsynligt, at detektionerne af DMS og DMSA i opstrømsboringen skyldes cyazofamid-anvendelse på nabomarken.

Det bemærkes, at der i nogle af grundvandsboringerne findes DMS inden den første cyazofamid-anvendelse i juni 2020. Inden den første cyazofamid-anvendelse detekteres DMS i boring M4 i 0,021 µg/L i en enkelt baggrundsprøve, og to gange i H2 i henholdsvis 0,023 og 0,048 µg/L. DMS fundet i baggrundsprøver fra H1, skyldes sandsynligvis, at der kan findes DMS under marken inden sprøjtning i relativt lave koncentrationer, formentlig fordi cyazofamid tidligere har været anvendt på marken, senest i 2014. Inden cyazofamid-testen blev startet i 2020, blev der ifm. analysemetodeudvikling i forskningsprojektet "TRIAFUNG" i september 2019 ligeledes detekteret lave koncentrationer (< 0,04 µg/L) af DMS i vand fra marken. Yderligere detekteres DMS i alle, med undtagelse af én, vandringsvandsprøver, hvilket tyder på, at DMS er til stede i grundvandet i lave koncentrationer (jf. Tabel 3) i området.

Detektionerne af DMS og DMSA i sugecellerne, der repræsenterer den umættede jord under marken, understøtter, at fundene af DMS og DMSA i grundvandsboringerne kommer fra marken. Detektionerne af DMS og DMSA i sugecellerne sker 2-3 mdr. efter den første cyazofamid-anvendelse (Figur 3), og det overordnede udvaskningsmønster er sammenligneligt med det, der generelt observeres i monitoringsboringerne nedstrøms for marken. Således er der et tidligere gennembrud af høje koncentrationer af DMSA relativt til gennembruddet for DMS. Derudover er pulsen af DMS også af længere varighed end DMSA i den umættede zone, hvilket også er den overordnede tendens i grundvandsboringerne.

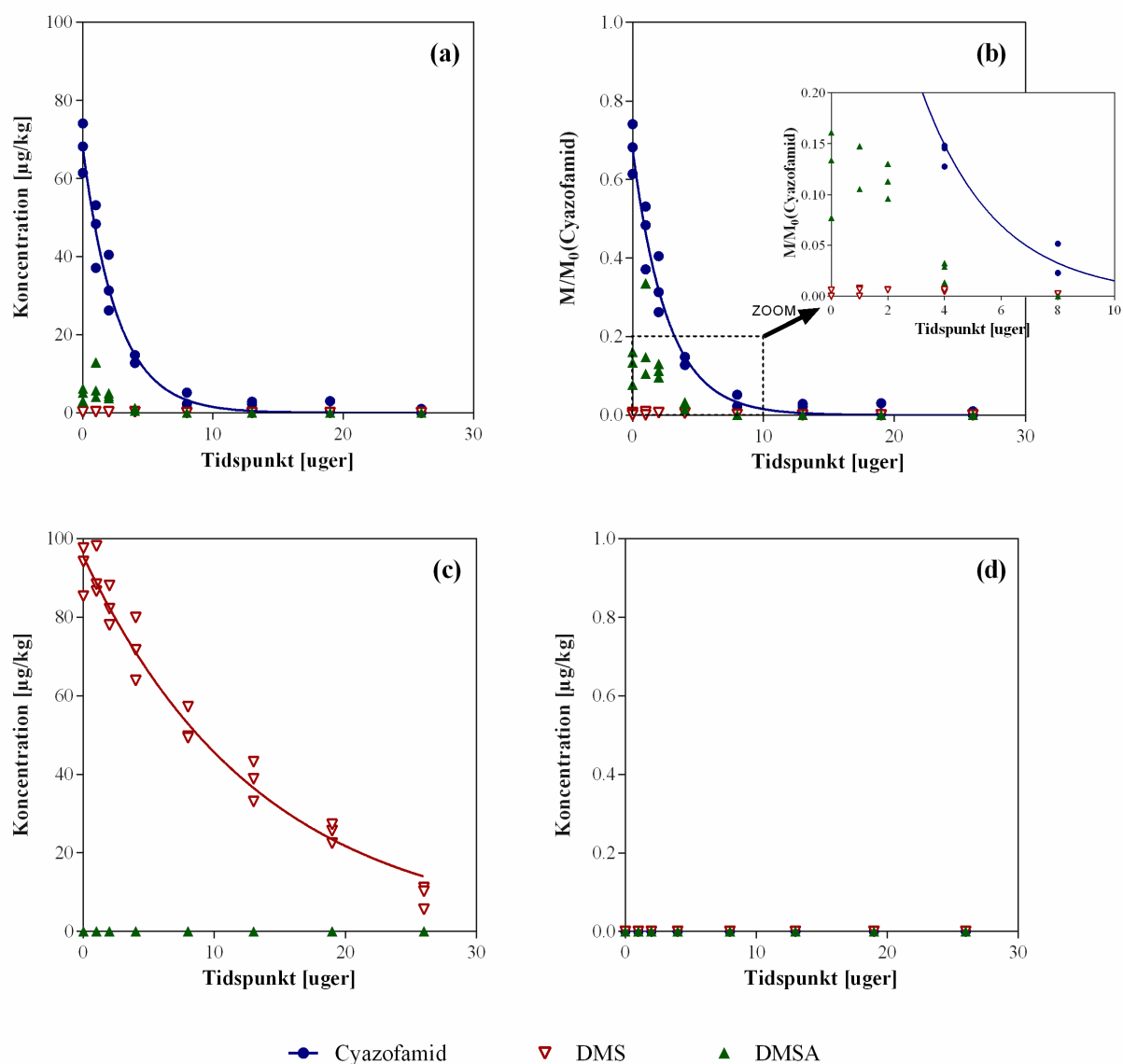
5. Nedbrydning af cyazofamid i laboratorieforsøg

I EU-godkendelsen af cyazofamid er DMS og DMSA ikke detekteret som nedbrydningsprodukter, så for at udelukke eller verificere stoffet som moderstof til DMS og DMSA er der udført to typer nedbrydningsforsøg, hhv. i et lukket batch-system og i et jordsøjlesystem med jævnlige gennemskylninger (begge forsøg udført under FungiSource-projektet, se Albers et al, 2022 for detaljer).

5.1 Batch-nedbrydningsforsøg med cyazofamid

Nedbrydning af både cyazofamid og DMS, samt dannelsen af DMSA og DMS, blev undersøgt i et batchforsøg, hvor enkeltstofferne blev tilsat til økologisk dyrket landbrugsjord og nedbrydningen ved 10°C blev fulgt over 6 måneder. Batchforsøget blev gennemført som en række parallelinkubationer, hvor tre prøver med hhv. cyazofamid og DMS blev stoppet og ekstraheret per tidspunkt. Tilsætning af hhv. cyazofamid eller DMS skete via en vandig fortynding af en koncentreret metanol-standard. Metodebeskrivelsen er uddybet i bilag 1.

Cyazofamid blev nedbrudt relativt hurtigt og fulgte første ordens kinetik (SFO-kinetik jf. bilag 1, Figur 11a,b). DT_{50} blev ud fra dette beregnet til 12,8 dage, som er lidt langsommere end de 3,3-5 dage oplyst i EFSA-konklusionen. Dette er dog forventeligt, da forsøget blev gennemført ved 10°C, mens forsøgene bag EFSA-data blev gennemført ved 20°C. Koncentrationen ved T_0 (dvs. direkte efter tilsætning af cyazofamid) svarer til 68% af det teoretisk tilsatte stof. Lave koncentrationer af DMS (<0,5 µg/kg, dvs. omkring 1% af teoretisk tilsat cyazofamid) kunne påvises i prøverne fra de første 30 dage. DMSA blev i perioden detekteret op til omkring 5 µg/kg (dvs. omkring 12% af teoretisk tilsat cyazofamid) i de samme prøver og i en enkelt prøve op til 12,9 µg/kg (34% af teoretisk tilsat cyazofamid).



Figur 11. Nedbrydning i batch laboratorieforsøg med jord: (a) prøver spiket med cyazofamid, (b) resultater fra plot (a) omregnet til molær koncentration og plottet relativt til den teoretisk tilsatte koncentration af cyazofamid, (c) prøver spiket med DMS og (c) kontrolforsøget uden tilsat pesticid.

Det skal dog bemærkes, at både indholdet af DMS og især DMSA blev detekteret i T_0 prøverne på samme niveau, som i de efterfølgende prøver med hhv. 0,2 µg/kg og 5 µg/kg (svarende til 0,6% og 12% af teoretisk tilsat cyazofamid). To scenarier kan tænkes at være årsag til, at DMS og DMSA detekteres allerede i nulprøven: a) at cyazofamid-standardopløsningen allerede indeholder DMS og DMSA (forurening af standard, nedbrydning i metanol eller ved opblanding med vand) eller b) at cyazofamid nedbrydes under ekstraktionen (jordekstraktionsmetoden var ikke optimeret til cyazofamid). På baggrund af denne observation blev det besluttet at lave en ekstra tankblandingsprøve (udtaget d. 22-06-2022) for at afklare, om DMS og DMSA var til stede allerede i tankblandingen, der blev anvendt til VAP-markforsøgene (jf. afsnit 2).

Cyazofamid-standardopløsningen blev ikke analyseret for DMS og DMSA i dette forsøg. Den konstante forekomst i prøverne tyder dog på, at der dannes yderligere DMS (nedbrydning af cyazofamid i jorden eller under ekstraktionen), da DMS nedbrydes under samme forhold med en halveringstid på ca. 69 dage (SFO-

kinetik jf. bilag 1, Figur 11c). Derudover var forholdet mellem hhv. DMS og DMSA med cyazofamid i samme prøve ikke konstant over tid, hvilket ville være forventeligt, hvis cyazofamid blev omdannet under ekstraktionen. Det vil sige, at selvom nedbrydning af cyazofamid under ekstraktionen og især en tilsætning af DMS og DMSA med cyazofamid-standardopløsning ikke kan udelukkes, så peger forsøget på, at nedbrydning af cyazofamid i jord fører til en dannelse af både DMS og DMSA.

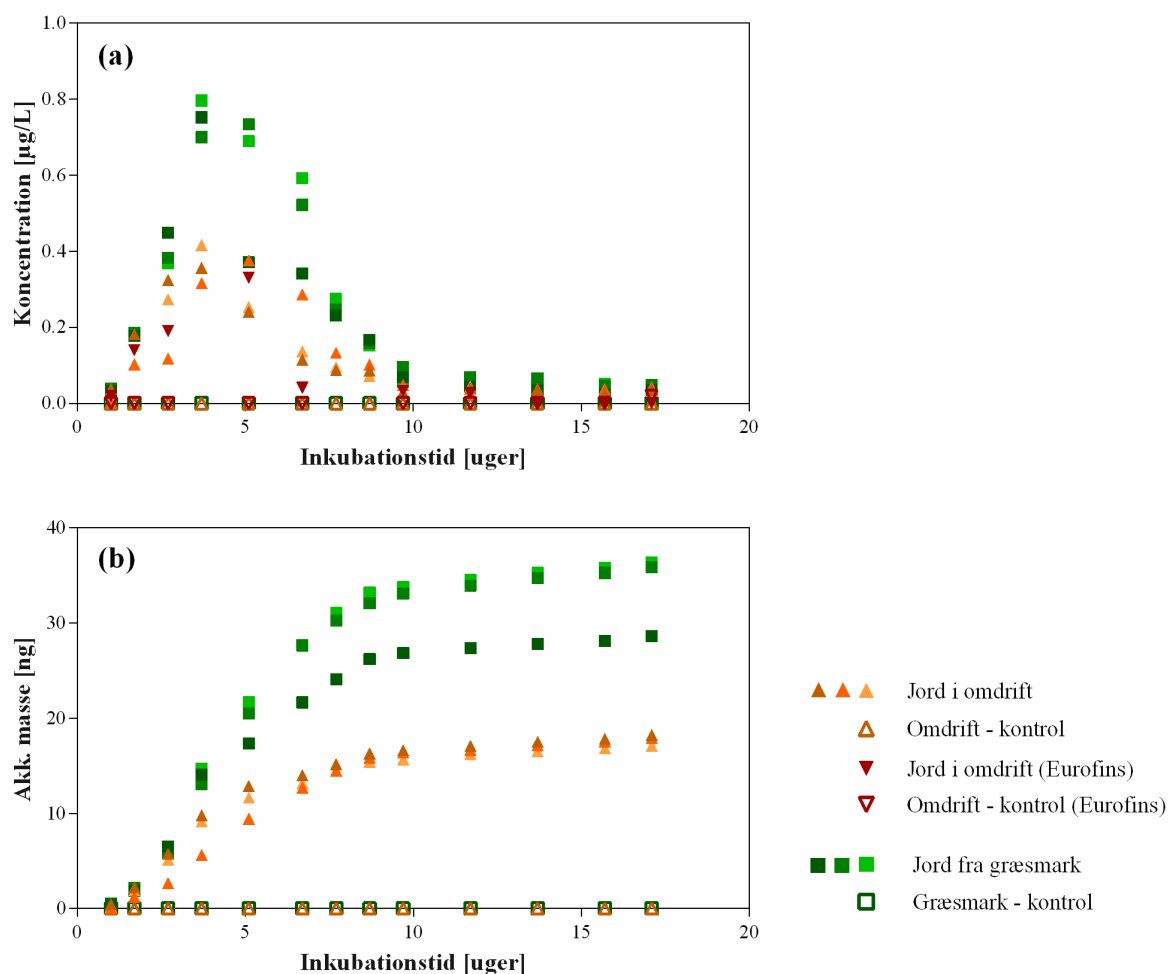
Selvom DMSA er indlejret i strukturen af DMS, viser nedbrydningsforsøget med DMS, at der ikke dannes DMSA ved nedbrydning af DMS (Figur 11c). I kontrolprøverne uden cyazofamid (Figur 11d) blev der ikke detekteret DMS eller DMSA.

5.2 Søjleforsøg med cyazofamid og udvaskning af DMS og DMSA

Cyazofamid indeholder DMS og DMSA indlejret i molekylets struktur (Figur 14). Det kan derfor ikke helt udelukkes, at cyazofamid nedbrydes til DMS eller DMSA under jord-væske ekstraktionen i batch-nedbrydningsforsøget, som ikke var optimeret for cyazofamid. For at undgå fejlkonklusioner omkring dannelse af DMS og DMSA fra cyazofamid, blev der opsat et ekstra forsøg til at følge udvaskning af DMS og DMSA fra jordsøjler spiket med cyazofamid. Der er anvendt to sandede jorde fra et økologisk jordbrug. Den ene er dyrket (jord i omdrift), og den anden er en græsmark. Jordene og metodebeskrivelsen, der er anvendt til forsøget, er uddybet i Bilag 1 og Albers et al (2022).

For hver jordtype blev der opsat tre søjler med tilsat cyazofamid, samt en kontrolsøjle uden cyazofamid. Søjlerne blev ugentlig vandet med milliQ-vand (23 mm), og der blev målt for DMS og DMSA i perkolatet, som udgjorde ca. 15 af de 23 mm. Yderligere blev de tre perkolater fra søjlerne med jord i omdrift ved 10 af de 12 vandingsdage hældt sammen til én prøve (1:1:1) og de 10 sammenhældte prøver med tilhørende perkolater fra kontrolsøjlen sendt til analyse hos Eurofins. I de 10 udvalgte prøver blev koncentrationen af DMS og DMSA verificeret i forhold til analyserne lavet hos GEUS, samt analyseret for CTCA og CCIM.

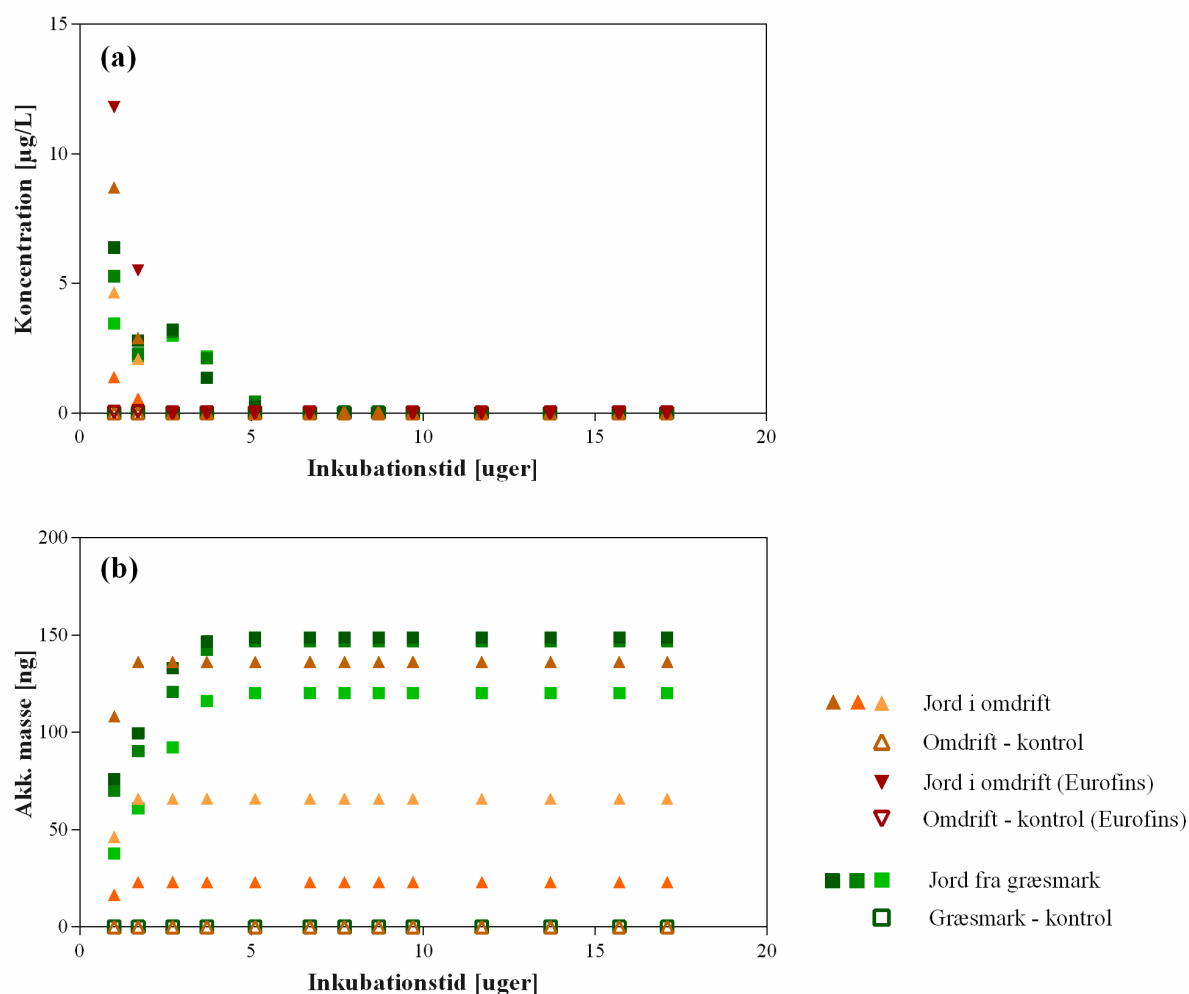
Cyazofamid blev tilsat til jordsøjlerne direkte fra en acetonitril standard (6 µg cyazofamid pr. søjle, svarende til 1 x markapplikation, som er 80 g/ha uanset produkttype, der er anvendt på Jyndevad marken) uden yderligere opblanding i vand. Acetonitrilen blev afdampet inden forsøget startede. Inden tilsætning til søjlerne, blev standarden målt for DMS og DMSA. Pga. af analysemetoden, blev standarden fortyndet i surt milliQ-vand (10 µL cyazofamid-standard fortyndes ad 1000 µL milliQ-vand (0,2% myresyre)). Analysen viste, at den vandige standard indeholdt 25 µg/L DMSA; DMS kunne ikke påvises (< 0,01 µg/L). Regnes tilbage til den oprindelige cyazofamid-standard i acetonitril, der blev tilsat til søjlerne, indeholder den 2500 µg/L DMSA. Det svarer til, at 25 ng DMSA blev tilsat til hver søjle. Det vil sige, at 1% af det teoretisk tilsatte cyazofamid blev tilsat som DMSA, såfremt der sker en lignende nedbrydning af cyazofamid i acetonitril. Dette bidrag af DMSA i den vandige standard, er i størrelsesorden med bidraget, der er målt i VAP-tankblandingen med cyazofamid svarende til ca. 3% (beregnet ud fra det molære indhold, jf. afsnit 2). Grundet analysetekniske forhold (manglende kromatografisk tilbageholdelse på LC-kolonnen) kan der ikke analyseres for DMSA direkte i en acetonitril-opløsning, hvorfor indholdet af DMSA ikke kan bestemmes direkte i cyazofamid-opløsningen, der er anvendt til at spike søjlerne.



Figur 12. Udvasning af DMS fra jordsøjler (økologisk landbrugsjord i omdrift og økologisk græsmark) tilsat cyazofamid og kontrolsøjler uden tilsat pesticid. A) koncentrationen af DMS i perkolat fra søjlerne. B) Udvasning af DMS beregnet som akkumuleret masse over tid. Prøverne "Jord i omdrift (Eurofins)" og "Omdrift – kontrol (Eurofins)" er både analyseret i GEUS' laboratorie og hos Eurofins.

I den ugentlige perkolerings af alle jordsøjlerne, blev der målt en betydelig udvasning af DMS i løbet af de første 10 uger. Efter 4 uger var DMS-koncentrationerne på deres maksimum på 0,35 og 0,75 $\mu\text{g/L}$ i perkolatet fra hhv. søjlerne med jord i omdrift og i perkolatet fra søjlerne med jord fra græsmark (Figur 12a). Den akkumulerede masse af DMS nåede op på hhv. 15 og 30 ng, som svarer til 0,7% og 1,3% af den tilsatte mængde cyazofamid (Figur 12b). Analyseresultaterne af prøverne sendt til Eurofins til verificering, kunne bekræfte de fundne koncentrationer af DMS i prøverne (Figur 12a og Figur B3, Bilag 1).

Den cyazofamid-standard, der blev brugt til at spike søjlerne, blev analyseret for DMS, som ikke kunne påvises. DMS tilsat med cyazofamid-opløsningen kan derfor med stor sikkerhed udelukkes som kilde. Selvom omdannelsesprocenten af cyazofamid til DMS er relativt lav (max 1,3%), bør pesticidanvendelsen af cyazofamid således tages med i betragtning som mulig kilde til DMS i grundvandet, hvilket også er i overensstemmelse med udvasningsdata fra Jyndeved-marken.



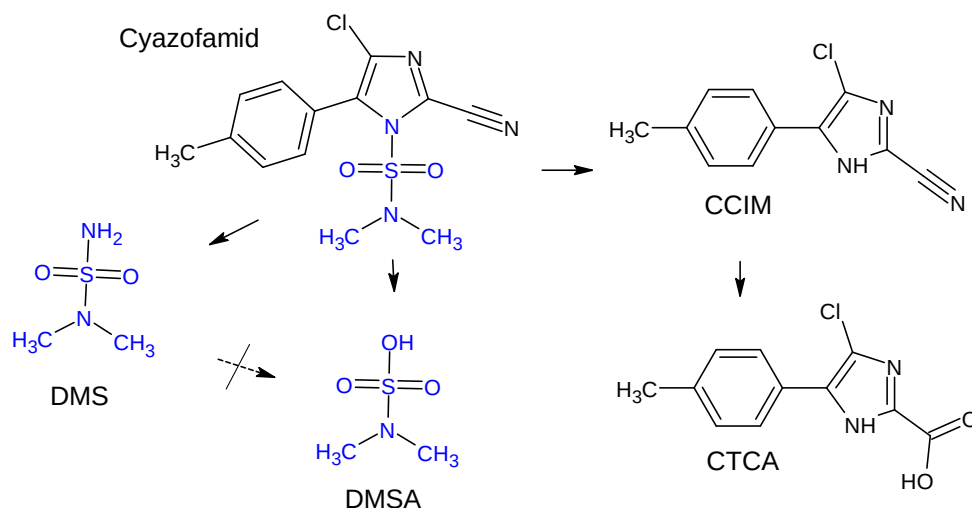
Figur 13. Udvaskning af DMSA fra jordsøjler (økologisk landbrugsjord i omdrift og økologisk græsmark) tilsat cyazofamid og kontrolsøjler uden tilsat pesticid. A) koncentrationen af DMSA i perkolat fra søjlerne. B) Udvaskning af DMSA beregnet som akkumuleret masse over tid. Prøverne "Jord i omdrift (Eurofins)" og "Omdrift – kontrol (Eurofins)" er både analyseret i GEUS' laboratorie og hos Eurofins.

DMSA kunne påvises i de første uger efter opsætning, med de højeste koncentrationer på gennemsnitlig 5 $\mu\text{g/L}$ i den første prøve (Figur 13a). Koncentrationerne faldt meget hurtig til under detektionsgrænsen i søjlerne med jord fra landbrugsjord. Efter fem uger kunne heller ingen udvaskning detekteres fra græsmarksjord ($< 0,3 \mu\text{g/L DL}$, GEUS-analyse). De analyserede kontrolprøver (tilsætning af DMSA til perkolat fra kontrolsøjlen uden cyazofamid) viste, at DMSA-koncentrationen tendentielt blev undervurderet i GEUS-analyserne. Det er i overensstemmelse med, at Eurofins målte hhv. 11,8 $\mu\text{g/L}$ og 5,5 $\mu\text{g/L}$ i de to blandede prøver fra udtagsdag 7 og 12 (Figur 13a). I samme prøver var den gennemsnitlige koncentration målt på GEUS hhv. 4,9 $\mu\text{g/L}$ og 1,9 $\mu\text{g/L}$, dvs. mere end en faktor 2 lavere end resultaterne fra Eurofins. De afrapporterede DMSA-koncentrationer i søjleforsøget skal derfor betragtes som et udtryk for minimum forventet dannelse af DMSA.

Koncentrationerne i perkolaterne fra landbrugsjorden varierede meget, hvilket ses tydeligt på den akkumulerede mængde af DMSA, som varierer fra 23 ng til 136 ng. I søjlerne med jord fra græsmarken var der ikke så stor variation mellem replikater, og den akkumulerede udvaskede mængde af DMSA lå mellem

120 ng og 149 ng. DMSA blev detekteret i en mængde svarende til op til 6,4% af det tilsatte cyazofamid. Dermed lå den udvaskede mængde betydeligt over mængden af DMSA, som potentielt kunne være tilsat med cyazofamid-opløsningen (1%). Selvom mængden af DMSA tilsat sammen med cyazofamid-opløsningen til søjlerne ved forsøgets start er behæftet med lidt usikkerhed, er det tydeligt, at cyazofamid omdannes til DMSA i jorden og at DMSA udvasker fra jordsøjlerne.

I ingen af prøverne fra kontrolsøjlen kunne der påvises udvaskning af DMS, hvilket er blevet bekræftet fra Eurofins. I GEUS' analyser af kontrolsøjlerne kunne der heller ikke detekteres DMSA (DL 0,3 µg/L), mens Eurofins detekterede lave DMSA-koncentrationer < 0,06 µg/L i kontrolsøjle-prøverne fra første og anden perkolering. Det kan ikke udelukkes, at der er tale om kontaminering i laboratoriet, men det kan også være en reel forekomst af DMSA. De detekterede koncentrationer er dog markant lavere (op til ca. 200 gange) end koncentrationerne detekteret i prøverne fra de spikede søjler. Det er derfor tydeligt, at DMSA bliver dannet fra cyazofamid.



Figur 14. Foreslået nedbrydningsvej for cyazofamid. Nedbrydning af DMS til DMSA kunne ikke verificeres i batch-nedbrydningsforsøgene. Nedbrydning af cyazofamid til CCIM og videre til CTCA var ikke inkluderet i batchforsøget. I søjleforsøget var CCIM og CTCA inkluderet, men kun CTCA blev detekteret og kun i én prøve på dag 12. CCIM: 4-chloro-5-(4-methylphenyl)-1H-imidazole-2-carbonitrile; CTCA: 4-chloro-5-(4-methylphenyl)-1H-imidazole-2-carboxylic acid; DMS: N,N-dimethylsulfamid; DMSA: dimethylsulfamic acid.

Resultaterne af batch-nedbrydningsforsøget med DMS (Figur 11c) tyder ikke på, at DMSA dannes ud fra nedbrydning af DMS (Figur 14), dog er detektionsgrænsen for analysen i jord 1 µg/kg, så det kan ikke udelukkes, at DMSA dannes i koncentrationer, der ikke kan måles med metoden. DMS og DMSA blev begge dannet i batch- og søjleforsøgene med tilsætning af cyazofamid. Der er ikke lavet nedbrydningsforsøg til bestemmelse af nedbrydningsraten af DMSA, så det vides ikke, om DMSA nedbrydes i jord eller perkolat.

Der blev kun analyseret for CCIM og CTCA i jordsøjleforsøgene i de prøver, der blev sendt til Eurofins. CTCA blev detekteret en enkelt gang på dag 12 i en koncentration på 0,06 µg/L, mens CCIM ikke blev detekteret. CTCA og CCIM er ikke detekteret i nogen vandprøver udtaget fra Jyndevad-marken i løbet af monitoringen. CCIM er kun detekteret én gang og det i tankblandingsprøven fra d. 22/6-2022 (de øvrige tankblandingsprøver blev ikke analyseret for nedbrydningsprodukterne). Nedbrydningen af cyazofamid via CCIM til CTCA, som vist i Figur 14, var ikke inkluderet i batch-nedbrydningsforsøgene. Ud fra dannelsesprocenterne på 31% for CCIM og 21% for CTCA (EFSA, 2020), indholdet af CCIM i

tankblandingsprøven og CTCA i perkolatet fra søjleforsøget, er det forventningen, at CCIM og CTCA dannes i jord. I henhold til EFSA-konklusionen har både CCIM og CTCA høje K_{FOC} værdier (ca. 300-1600 mL/g) og deres mobilitet i jord vurderet til "medium to low mobility". Det er derfor ikke forventeligt, at de udvasker i nævneværdig grad, hvilket understøttes både af søjleforsøget og monitoreringen.

6. Konklusion

Efter anvendelse af cyazofamid på VAP-marken ved Jydevad viser monitoringen, at nedbrydningsprodukterne CCIM og CTCA ikke findes i nogen af vandprøverne, der er indsamlet fra Jydevad-marken. Derimod findes DMS og DMSA overordnet i relativt høje koncentrationer og over lange perioder (ca. 6-12 mdr.) i grundvandsboringerne. I disse perioder overskrider koncentrationen af DMS og DMSA kravværdien med en faktor 2-4 mens enkeltmålinger overskrider kravværdien op mod en faktor 8. Derudover er der et konsistent mønster af, at DMSA detekteres hurtigere i grundvand under marken end DMS, og at de første gennembrud af koncentrationer over kravværdien overordnet sker ca. et år efter den første cyazofamid-anvendelse. Yderligere viser resultaterne, at varigheden (pulsene) af detektioner er længere for DMS end for DMSA, omend de maksimale koncentrationer af DMSA er højere end for DMS. Detektionerne fra vandprøver i en meters dybde i sugecellerne, der repræsenterer, hvad der strømmer fra marken ned til grundvandet, understøtter resultaterne fra grundvandsboringerne. Således viser analyser fra en meters dybde, at DMS og DMSA udvasker i relativt høje koncentrationer, at DMS og DMSA findes 2-3 mdr. efter den første cyazofamid-anvendelse, og at varigheden for DMSA-detektioner er kortere end for DMS.

DMS og DMSA i opstrømsboring M7 vurderes ikke at stamme fra cyazofamid-anvendelsen på VAP-marken. Det skyldes, at (i) grundvandsstrømningsretningen fra marken er mod vest og boring M7 ligger øst for marken, (ii) tidspunktet for detektionerne sker senere, end hvad der er observeret i de resterende grundvandsboringer, og (iii) at der på nabomarken er dyrket kartofler i 2021 og der iht. indberetning af bedriftens sprøjtejournal er anvendt cyazofamid på bedriften i afgrøden kartofler. Således er det sandsynligt at fundene, der sker senere i boring M7, er relateret til en cyazofamid-anvendelse på nabomarken, hvor kartofler er dyrket et år senere end på VAP-marken.

Fra analysen af tankblandingen er det tydeligt, at cyazofamid hydrolyseres til CCIM og DMSA, inden blandingen sprøjtes på marken. Bidraget af DMSA fra tankblandingen til marken anses ikke for at være den primære kilde til udvaskning af DMSA, idet indholdet af DMSA i tankblandingen kun bidrog med ca. 3% af det tilsatte cyazofamid. Dette resultat understøttes af søjleforsøgene, hvor udvaskningen af DMSA fra søjlerne er mere end 6 gange højere end det, der er tilført søjlerne via spike-opløsningen.

Batch-nedbrydnings- og jordsøjle-forsøgene understøtter resultaterne fra monitoringen på VAP-marken ved Jydevad. Det er vist, at cyazofamid nedbrydes relativt hurtigt i jord. Ved nedbrydning af cyazofamid dannes der både DMS og DMSA, hvorimod dannelse af DMSA fra DMS-nedbrydning ikke er påvist. Yderligere viser søjleudvaskningsforsøget, at DMS og DMSA udvasker i koncentrationer over kravværdien efter tilsætning af cyazofamid i en koncentration svarende til én mark applikation. Udvasning af CCIM eller CTCA (CTCA kun påvist i ét perkolat) er ikke påvist i søjleforsøget, hvilket er i overensstemmelse med VAP-resultaterne.

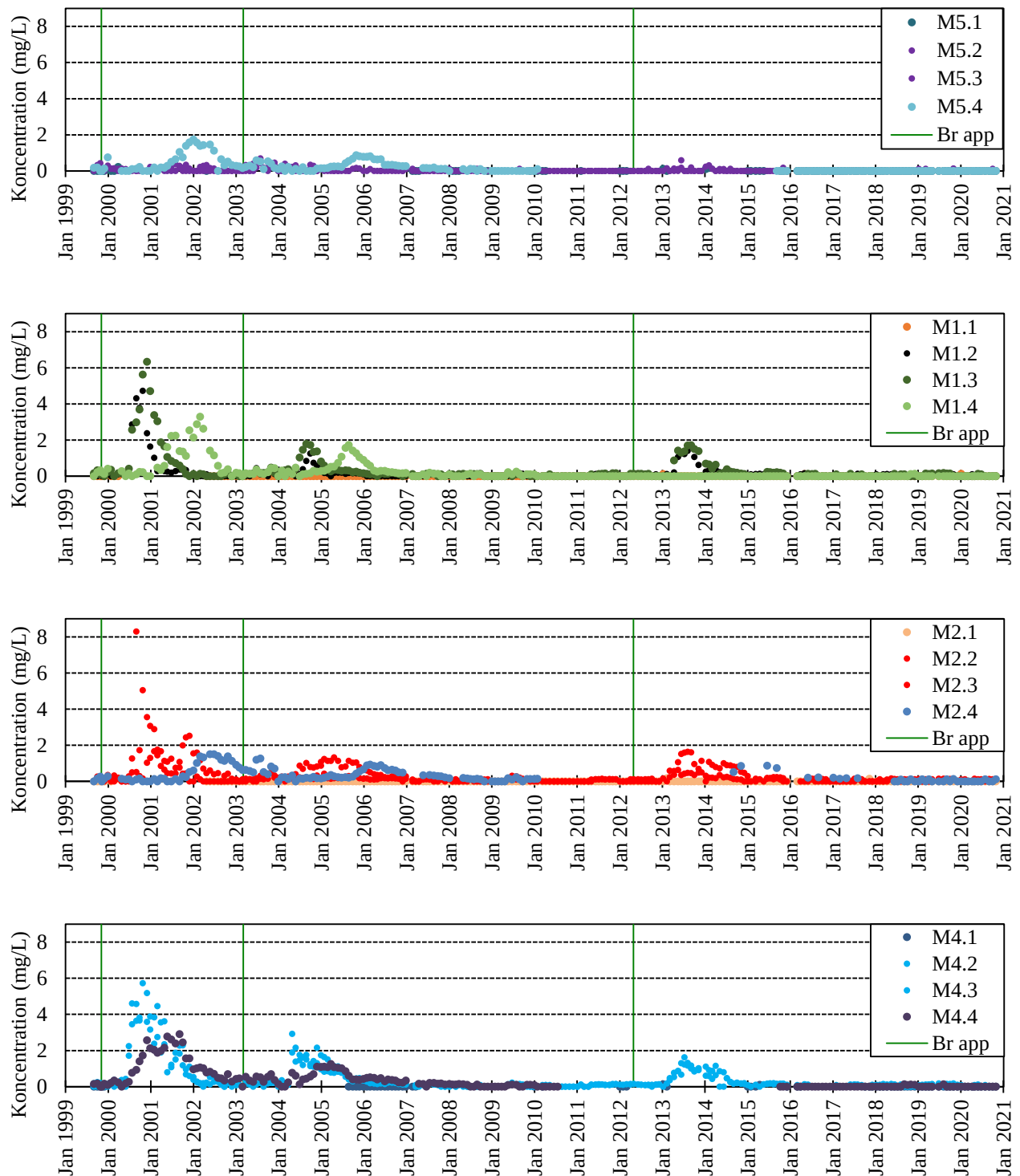
7. Referencer

- Albers C.N., Bollmann U.E., Johnsen A.R., Clausen L., Schøller G.S., Bitsch K., Sørensen H.U., Karan S., Binderup M. 2022. FungiSource – Biocid eller pesticid som kilde til grundvandsforurening med DMS og 1,2,4-triazol? Miljøstyrelsen, Bekæmpelsesmiddelforskning (rapport indsendt og under review i følgegruppen).
- Badawi, N., S. Karan, E.B. Haarder, A.E. Rosenbom, L. Gudmundsson, C.H. Hansen, C.B. Nielsen, F. Plauborg, K. Kørup & P. Olsen (2022). The Danish Pesticide Leaching Assessment Programme - Monitoring results 1999–June 2020. Tilgængelig online www.vap-grundvand.dk.
- BMD 2022. Bekæmpelsesmiddeldatabasen (BMD). [besøgt online 2022-09-22]. Tilgængelig online: <https://mst.dk/kemi/database-for-bekaempelsesmidler/bmd/>
- Brüsch, W., A.E. Rosenbom, R.K. Juhler, L. Gudmundsson, C.B. Nielsen, F. Plauborg & P. Olsen (2022). The Danish Pesticide Leaching Assessment Programme - Monitoring results 1999–June 2012. Tilgængelig online www.vap-grundvand.dk.
- ECHA 2016. Regulation (EU) No 528/2012 concerning the making available on the market and use of biocidal products. Assessment report Dichlofluanid product-type 21 (anti-fouling products). <https://echa.europa.eu/documents/10162/4e5ac246-8463-fac1-49b3-eeef6a63c2fd>.
- EFSA 2020. Updated peer review of the pesticide risk assessment of the active substance cyazofamid. EFSA Journal 2020;18(9):6232, 25 pp. <https://doi.org/10.2903/j.efsa.2020.6232>.
- US-EPA 2004. Pesticides – fact sheet for cyazofamid. [besøgt online 2022-10-19]. Tilgængelig online: https://www3.epa.gov/pesticides/chem_search/reg_actions/registration/fs_PC-085651_01-Sep-04.pdf

8. Bilag 1

Uddybende information til monitoreringen og laboratorieforsøg

Resultater fra tracerforsøg med bromid i VAP



Figur B1. Resultater fra tracerforsøg med bromid på Jyndeved. De grønne vertikale linjer markerer tidspunktet for udbringning af bromid på marken.

Tankblandingsprøver

Tabel B1 indeholder en oversigt over cyazofamid-koncentrationen i alle tankblandingsprøver, der er lavet i forbindelse med testen af cyazofamid i 2020. Bemærk at blandingen fra d. 22. juni 2020 ikke er sprøjtet i Jyndevad, men er lavet med formålet at måle indholdet af DMS, DMSA, CTCA og CCIM. Prøven blev lavet på Flakkebjerg og sendt til analyse for cyazofamid, DMS, DMSA, CCIM og CTCA. Ingen af de seks tankblandinger, der blev sprøjtet på Jyndevad, er analyseret for nedbrydningsprodukterne. Alle 7 tankblandinger er opblandet ved tilsætning af 0,5 L Ranman Top (160 g cyazofamid/L) til 300 L vand under grundig omrøring. Den teoretiske koncentration af cyazofamid i tankblandingen er 267 mg/L (Tabel B1). Koncentrationen af cyazofamid i tankblandingsprøverne afviger (%CV) fra den teoretiske koncentration med ± 17 -24 %. Da det er svært at bedømme, om et pesticidprodukt er fuldt opblandet i tanken (afhængig af opblandingstiden), samt at ikke alle produkter har lige let ved at gå i opløsning, er det svært at udtage en homogen prøve til analyse. Opblandingstiden inden tankblandingsprøverne blev udtaget kendes ikke og må forventes at variere fra prøve til prøve. Yderligere udtages der ikke prøver til dobbeltbestemmelse, hvorfor tankblandingsprøveresultaterne altid vil være behæftet med en relativt stor usikkerhed. Den beregnede variation af koncentrationen i tankblandingsprøverne vist i tabel B1 er beregnet udelukkende ud fra det målte indhold af cyazofamid, da indholdet af nedbrydningsprodukter ikke er blevet målt.

Tabel B1. Indhold af aktivstof og nedbrydningsprodukter i tankblandinger anvendt til test af cyazofamid på Jyndevad. Prøven i juni 2022 er ikke udtaget i forbindelse med anvendelse af cyazofamid på Jyndevad (lavet i Flakkebjerg). Prøven er lavet ekstraordinært, da der ikke tidligere var blevet analyseret for de 4 nedbrydningsprodukter i tankblandingsprøverne fra Jyndevad. Bemærk desuden, at de 6 tankblandingsprøver fra 2020, der er anvendt i Jyndevad, har været frosset ned inden analyse.

Aktivstof	Enhed	14-06-2020	23-06-2020	17-07-2020	12-08-2020	01-09-2020	10-09-2020	22-06-2022*
Cyazofamid (målt)	mg/L	330	300	230	230	220	290	290
Cyazofamid (målt)	mmol/L	1,02	0,92	0,71	0,71	0,68	0,89	0,89
Cyazofamid (teoretisk)	mg/L	267	267	267	267	267	267	267
Cyazofamid (teoretisk)	mmol/L	0,82	0,82	0,82	0,82	0,82	0,82	0,82
Varianskoefficient (CV)	%	124	113	86	86	83	109	124

* prøven er ikke anvendt til sprøjtning af Jyndevad – kun anvendt til analyse af cyazofamid og nedbrydningsprodukter.

Nedbrydning af cyazofamid og DMS – Batchforsøg

Nedbrydning af cyazofamid og DMS, samt dannelsen af *N,N*-dimethylsulfamid (DMS) og *N,N*-dimethylsulfamic acid (DMSA) blev undersøgt i en sandet landbrugsjord fra en økologisk dyrket mark (Svanholm Gods, Skibby Kommune; flere informationer findes i Albers et al, 2022). 65 parallelinkubationer blev sat op i glastrør (Pyrex-glas, vasket og brændt af ved 550°C inden forsøget, Figur B2a): 2 $\pm$ 0,05 g jord blev afvejet (vådvægt, vandindhold 11,5%) og spiket med 100 μ L af hhv. en vandig opløsning af cyazofamid (2 mg/L; autoklaveret milliQ-vand, 0,08% MeOH; antal: 29) eller en vandig opløsning af DMS (2 mg/L; autoklaveret milliQ-vand, 0,08% MeOH; antal: 29). Kontrolprøver uden cyazofamid/DMS blev tilsat 100 μ L autoklaveret milliQ-vand (0,08% MeOH; antal: 7). Glasrørene blev efterfølgende lukket med PE-film, sat i en tætlukkende plastkasse med vådt filterpapir i bunden og inkuberet ved 10°C i mørke. Ved 8 tidspunkter fordelt over 6 måneder, blev nedbrydningen standset i tre cyazofamid-rør, tre DMS-rør og et kontrolrør uden cyazofamid/DMS ved at tilsætte 50 μ L internt standard (TBZ-D₉, DMS-D₆, 100 μ g/L, MeOH) og overføre prøverne til fryseren (-18°C) indtil ekstraktion og analyse (op til 3 måneder).

Prøverne blev ekstraheret ved jord-væske ekstraktion med ultralyd og horisontal udrystning. Prøverne blev tilsat 4 mL acetonitril (1% myresyre), sat 15 min i ultralydsbad, og derefter blev prøverne rystet natten over (150 rpm). Dagen efter blev prøverne centrifugeret (1500rpm, 1495rcf, 20min) og supernatanten filtreret (PTFE filter, 0,22 μ m). Ekstrakterne blev analyseret på UPLC-MS/MS – til analysen af cyazofamid blev

ekstrakterne fortyndet med milliQ-vand, mens 1 mL ekstrakt blev indampet til tørhed (N₂, 30°C) og genopløst i 500 µL milliQ-vand (0,2% myresyre). En kalibreringsrække 0,6-100 µg/kg (tilsat til jord i separate glaserør og ekstraheret på samme måde som prøverne) blev brugt. Blank jord og kontrolprøver (5 µg/kg, spiket med intern standard og frosset sammen med prøverne i op til 3 måneder) blev ekstraheret sammen med prøverne, som beskrevet for prøverne.

Da der ikke kunne skaffes ¹⁴C-mærket DMS i en høj nok renhed, blev der ikke udført mineraliserings-nedbrydningsforsøg af DMS. DMSA kan ikke købes som ¹⁴C-mærket standard og der blev ikke lavet nedbrydningsforsøg med DMSA.

Der blev testet to modeller til beskrivelse af nedbrydningskinetikken og beregning af halveringstiden (DT₅₀) for cyazofamid og DMS. Som første præference blev modellering af nedbrydningskinetikken og beregning af halveringstiden (DT₅₀) baseret på en første-ordens kinetisk model (Eq. 1). Alternativt blev en dobbelt-første-ordens kinetik (Eq. 2) anvendt:

$$\text{Single first-order (SFO)} \quad C_t = C_0 * e^{-kt} \quad (\text{Eq. 1})$$

$$\text{Double first-order in parallel (DFOP)} \quad C_t = C_0 * [(fraction_{fast} * e^{-k_{fast}t}) + (fraction_{slow} * e^{-k_{slow}t})] \quad (\text{Eq. 2})$$

med $fraction_{fast} + fraction_{slow} = 1$

Bedste fit blev valgt og for både cyazofamid og DMS kunne nedbrydningskinetikken beskrives ved en første-ordens kinetisk model (Eq. 1) og halveringstiden, DT₅₀, blev beregnet ud fra ligningen (Eq.3):

$$\text{Halveringstid} \quad DT_{50} = \frac{\ln 2}{k} \quad (\text{Eq. 3})$$

Udvaskning af DMS og DMSA – Søjleforsøg

For at undgå fejlkonklusioner omkring dannelse af DMS og DMSA fra cyazofamid baseret på batch-forsøget, blev der opsat et ekstra forsøg, til at følge udvaskning af DMS og DMSA fra otte jordsøjler (rustfrit stål, 15 cm, 29 mm Ø, udløb i bunden; Figur B2) spiket med cyazofamid. Søjlerne blev pakket nederst med 1 cm Ottawasand (mesh 20-30, ca. 14 g, opvarmet til 100°C natten over) og hernæst med 10 cm ikke-sigtet jord (ca. 85 g) - søjlen blev banket løbende i træplade for at ensarte pakningen af jorden. Fire søjler blev pakket med henholdsvis en sandet jord fra en økologisk-dyrket jordbrugsmark i om-drift (samme jord som i batch-nedbrydningsforsøget) og en sandet økologisk tør eng/græsmark, begge fra områder ved Svanholm Gods (flere informationer om jordene og forsøget findes i Albers m.fl., 2022). Til sidst blev der, til hver af tre af søjlerne per jordtype, tilsat 10 µL cyazofamid-opløsning (600 mg/L i acetonitril; dvs. 6 µg cyazofamid pr. søjle). Efter én times afdampning af acetonitril, blev der blandet rundt i de øverste 1-2 cm jord. Én søjle per jordtype blev ikke tilsat cyazofamid (kontrol). Efterfølgende blev søjlerne vædet med 5 mL MQ-vand og placeret i en 20°C-inkubator.

En gang om ugen blev søjlerne vandet med 3 x 5 mL MQ-vand (= 23 mm). Vandingen blev foretaget over et par timer. Perkolatet (ca. 10 mL) blev opsamlet i 20 mL glas-LSC-vials og filtreret (Q-max, 0,22 µm, PTFE hydrophilic). Til 1 mL prøve blev der tilsat 50 µL intern standard (DMS-D₆; 0,1µL, milliQ-vand/myresyre). Efterfølgende blev prøverne analyseret ved direkte injektion på UPLC-MS/MS.



Figur B2. Forsøgsopsætning til batch-nedbrydningsforsøg og jordsøjler **(a)** batch-nedbrydningsforsøg med cyazofamid og DMS og **(b)** søjleforsøg til undersøgelse af udvaskning af DMS og DMSA fra cyazofamid.

UPLC-MS/MS analyser på GEUS

Både jordekstrakter fra batchforsøget og perkolat-prøver fra søjleforsøget blev analyseret for cyazofamid (kun batchforsøget), DMS og DMSA. Der blev ikke analyseret for CTCA og CCIM på GEUS.

Analyse af cyazofamid

Prøve: 100 µL filtreret jordekstrakt fortyndes med 900 µL milliQ-vand.

Kolonne: Aquity HSS C18 (1.8µm, 2.1x100mm, Waters); ovntemperatur: 30°C; dualgradient (Tabel B2, venstre) med A: milliQ-vand (0,1% myresyre) og B: acetonitril; ionization: ESI+, desolvation temperatur: 500°C, desolvation gas: 1000 L/h, cone gas: 30 L/h, capillary: 0,5V, source temperatur: 150°C. De massespektrometriske parameter findes i Tabel B3.

Tabel B2. LC-gradient for cyazofamid-analyse (venstre). LC-gradient for analyse af DMS & DMSA (højre).

Tid [min]	Flow [mL/min]	% A	% B
0	0,25	90	10
1	0,25	90	10
4	0,3	1	99
4,5	0,4	1	99
4,6	0,4	90	10
5,8	0,25	90	10
6	0,25	90	10

Tid [min]	Flow [mL/min]	% A	% B
0	0,25	99	1
4	0,25	85	15
5	0,25	5	95
6	0,25	5	95
6,1	0,25	99	1
14	0,25	99	1

Analyse af DMS & DMSA

Prøve: 1000 µL filtreret jordekstrakt inddampet til tørhed (N₂, 30°C) og genopløst i 500 µL milliQ-vand (0,2% myresyre), eller filtreret perkolat fra jordsøjlerne.

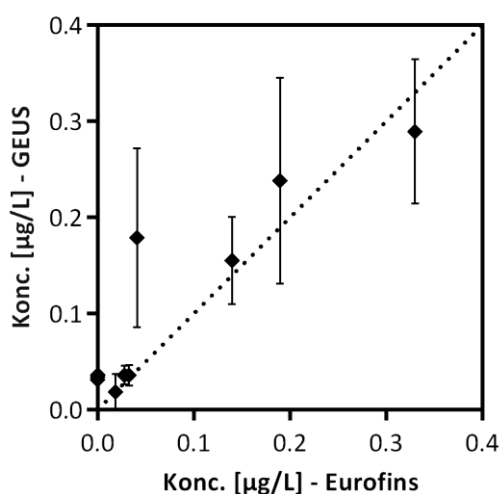
Kolonne: Hypercarb^{HT} kolonne (3µm, 100mm x 2,1mm, Thermo Fisher Scientific); ovntemperatur: 40°C; dualgradient (Tabel B2, højre) A: milliQ-vand med 0,2% myresyre og B: methanol eller acetonitril med 0,2% myresyre; ionization: ESI+/ESI-, desolvation temperatur: 500°C, desolvation gas: 1000 L/h, cone gas: 30 L/h, capillary: 0,5V, source temperatur: 150°C. De massespektrometriske parameter findes i Tabel B3.

Tabel B3. Massespektrometriske analyseparametre for analyse af cyazofamid, DMS og DMSA og interne standarder.

Stof	Cone voltage	Kvant. ion (Kollisionsenergi CE)	Kval. ion (Kollisionsenergi CE)
<i>N,N</i> -Dimethylsulfamide, DMS	30V	125 → 108 (CE 14V)	125 → 44 (CE 14V)
<i>N,N</i> -Dimethylsulfamic acid, DMSA	-46V	124 → 80 (CE -14V)	124 → 124 (CE -2V)
Cyazofamid	35V	325 → 108 (CE 12V)	327 → 108 (CE 13V)
<i>N,N</i> -Dimethylsulfamide- D_6 , DMS- D_6	20V	131 → 114 (CE 8V)	131 → 59 (CE 10V)
Tebuconazole-(tert-butyl- D_9), TBZ- D_9	45V	312 → 70 (CE 22V)	312 → 125 (CE 34)

Ekstern analyse af DMS og DMSA til verificering af GEUS analyseresultater

For at verificere, at de målte koncentrationer er korrekte, blev en del af prøverne fra søjleforsøget analyseret for indholdet af DMS, DMSA, CTCA og CCIM hos Eurofins. For at reducere udgifterne blev det begrænset til prøverne fra jordsøjler med landbrugsjord. Derudover blev de tre replikater fra søjlerne med tilsætning af cyazofamid blandet (1:1:1) til én prøve, inden de blev sendt til analyse hos Eurofins. Figur B3 viser korrelationen mellem DMS-analyser foretaget på hhv. GEUS og Eurofins. Da der kun var fund af DMSA i to af de prøver, der blev sendt til analyse hos Eurofins, afbildes de ikke med et korrelationsplot. Ud fra disse to prøver, som viste en højere koncentration af DMSA end koncentrationerne detekteret ved analyserne på GEUS (Figur 13), samt de kontrolprøver der blev analyseret på GEUS, hvor DMSA blev tilsat til perkolat fra kontrolsøjlen uden cyazofamid, fremgår det at DMSA-koncentrationen tendentielt er blevet underestimeret i GEUS-analyserne. Derfor skal afrapporterede DMSA data i batch-nedbrydnings- og udvasknings-forsøg (jordsøjler) ses som et udtryk for minimum forventet dannelse af DMSA fra cyazofamid i jord.



Figur B3. Korrelation mellem analyseresultater for DMS fra GEUS og Eurofins.