



Sveriges lantbruksuniversitet
Swedish University of Agricultural Sciences

KompetensCentrum för Kemiska Bekämpningsmedel (CKB)

Ove Jonsson, Ingemar Fries och Jenny Kreuger

Utveckling av analysmetoder och screening av växtskyddsmedel i bin och pollen



CKB rapport 2013:1

Uppsala 2013

**KompetensCentrum för Kemiska Bekämpningsmedel
Sveriges lantbruksuniversitet**

**Centre for Chemical Pesticides
Swedish University of Agricultural Sciences**

ISBN: 978-91-576-9173-6

KompetensCentrum för Kemiska Bekämpningsmedel

CKB

CKB rapport 2013:1

Utveckling av analysmetoder och screening av växtskyddsmedel i bin och pollen

KompetensCentrum för Kemiska Bekämpningsmedel, CKB

Sveriges lantbruksuniversitet, SLU. 2013

ISBN: 978-91-576-9173-6

Omslagsbilder:

Bi på gul sötväppling: Maj Rundlöf

Pollen i vaxkaka: Ove Jonsson

Innehåll

Sammanfattning.....	4
Summary.....	5
Bakgrund.....	6
Insamling av bin och pollen.....	6
Analysmetoder.....	7
Resultat.....	8
Diskussion och observationer.....	11
Slutsatser.....	12
Referenser.....	13
Bilaga A: Provinsamling, lokaler.....	14
Bilaga B: Koncentrationer i bin, sorterat på provlokal.....	15
Bilaga C: Koncentrationer i pollen, sorterat på provlokal.....	18
Bilaga D: Detektions- och kvantifieringsgränser i bin och pollen.....	21
Bilaga E: Instruktioner för provinsamling.....	24
Bilaga F: Analysmetodik, provupparbetning.....	25

Sammanfattning

Syftet med projektet var att undersöka förekomsten av växtskyddsmedel i bin och pollen från bikupor med olika närhet till jordbruksmark. Rester av växtskyddsmedel i terrester miljö är betydligt mindre studerade än resthalter i vattenmiljön.

Honungsbin (*Apis mellifera*) och vaxkakor med pollen samlades in från 14 olika bisamhällen i 8 olika regioner i södra och mellersta Sverige under månadsskiftet maj/juni och i juli 2012, resulterande i totalt 28 biprover och 26 pollenprover. Analysmetoder för dessa komplexa provmatriser har utvecklats för bestämning av 78 växtskyddsmedel med vätskekromatografi kopplat till tandem masspektrometri (LC-MS/MS) och ytterligare 21 substanser med gaskromatografi kopplat till masspektrometri (GC-MS).

I biproverna detekterades sammanlagt 21 av de undersökta substanserna och i insamlat pollen från pollenkakor detekterades 26 substanser. De allra flesta fynden uppvisade låga koncentrationer kring detektions- eller kvantifieringsgränserna för substanserna. Som mest detekterades 13 olika substanser i ett och samma biprov och 16 olika substanser i ett och samma pollenprov. De högsta uppmätta koncentrationerna i studien var för två svampmedel: 407 ng/g för prokloraz i pollen samt 309 och 42 ng/g för azoxystrobin i pollen respektive bin, alla insamlade från samma område i mellersta Skåne.

Tre neonikotinoider, acetamiprid, klotianidin och tiaklopid detekterades i låga koncentrationer (10 ng/g eller lägre) i både bin och insamlat pollen. Mest frekvent förekommande var tiaklopid med 10 fynd i bin och 6 fynd i pollen.

Vad gäller både koncentrationer och frekvens av de undersökta växtskyddsmedlen dominerade lokalerna i mellersta och södra Skåne. Generellt detekterades fler substanser vid den tidiga provtagningen i månadsskiftet maj/juni än vid provtagningen i juli.

De utvecklade analysmetoderna för bin och av bin insamlat pollen har över lag låga detektionsgränser och skulle kunna användas både för bedömning av bisamhällens exponering för växtskyddsmedel och mer generellt för att studera vilka växtskyddsmedel som cirkulerar i den terrestra delen av odlingslandskapet och därmed har potential att den vägen spridas i ekosystemet. Provmängden som behövs är liten och bimetoden kan anpassas för analys av enskilda bin om behov finns.

Summary

Honey bees (*Apis mellifera*) and pollen combs were collected from 14 bee communities in eight different regions in the south of Sweden during May/June and July 2012, resulting in 28 bee samples and 26 pollen samples in total. Analytical multimethods based on liquid chromatography connected to tandem mass spectrometry (LC-MS/MS) and gas chromatography connected to mass spectrometry (GC-MS) were developed and covered 78 and 21 different pesticides, respectively. The detection limits differed significantly between compounds and typically ranged between 0.01 and 2 ng/g bee or pollen.

In total, 21 different pesticides were detected in bee samples and 26 pesticides in pollen samples. The majority of the findings were in the low analytical range close to the detection or quantification limits for the compounds. Up to 13 pesticides were detected in a single bee sample and up to 16 pesticides in a single pollen sample. The highest measured concentrations were for the fungicides prochloraz with 407 ng/g in pollen and azoxystrobin with 309 ng/g in pollen and 42 ng/g in bees. The neonicotinoid insecticides acetamiprid, clothianidin and thiacloprid were detected in both bee and pollen samples at low ng/g levels. The most frequently detected neonicotinoid was thiacloprid that was found in ten bee samples and six pollen samples.

With regard to both frequency and concentration levels the sampling locations in the south and central part of the Skåne region dominated. Also, the samples collected in the May/June shift dominated in these aspects over the samples collected in July.

The described methods can be used to determine pesticide exposure to bee communities as well as to screen for terrestrial exposure in the agricultural environment. The methods can be adapted to single bee analysis, thus enabling analysis of wild bee populations, and to very small amounts of pollen if needed.

Bakgrund

Rester av växtskyddsmedel i terrester miljö är betydligt mindre studerade än resthalter i vattenmiljön. Syftet med detta projekt var att undersöka om bin och pollen insamlat av bin kan användas för att bedöma den terrestra exponeringen för substanser använda för växtskydd i det svenska jordbruket. Även de globalt uppmärksammade problemen med försvagade, alternativt helt utslagna bisamhällen och den inverkan detta får på möjligheten till goda och stabila skördar gör det intressant att kunna analysera kemikalieexponeringen på bin [1-4]. För att möjliggöra detta ingick det i uppdraget att utveckla moderna, högkvalitativa bestämningsmetoder för så många som möjligt av de substanser som sedan tidigare ingår i det svenska miljöövervakningsprogrammet för växtskyddsmedel i vatten, genom att anpassa befintliga metoder till de mer komplexa bi- och pollenmatriserna.

Projektet var ett samarbete mellan Naturvårdsverket, KompetensCentrum för Kemiska Bekämpningsmedel (CKB), Institutionen för vatten och miljö vid Sveriges lantbruksuniversitet (SLU) i Uppsala, Institutionen för ekologi vid SLU i Uppsala, samt biodlare i södra och mellersta Sverige. Naturvårdsverket finansierade insamlingen och analysen av proverna medan CKB finansierade metodutvecklingsarbetet. Insamlingen av prover organiserades från Institutionen för ekologi. Det analytiska arbetet utfördes på laboratoriet för organisk miljökemi (OMK) vid Institutionen för vatten och miljö (SLU, Uppsala) i samarbete med CKB.

Insamling av bin och pollen

De åtta regionerna som ingick i studien valdes ut med tanke på både geografisk spridning och på förväntad växtskyddsmedelsanvändning i bisamhällenas närområden. Från vart och ett av de totalt 14 bisamhällena togs ett biprov, bestående av ett femtiotal bin och ett pollenprov bestående av en utskuren bit av en vaxkaka med insamlat pollen. Detta utfördes vid två tillfällen under sommaren 2012, först vid månadsskiftet maj/juni och senare under juli månad. Biproverna samlades in i glasflaskor, medan vaxkakorna innehållande pollen slogs in i aluminiumfolie och sedan i pappaskar. Alla proverna förvarades frysta vid ca -20°C i väntan på analys.



1. Uppland: Knivsta och Ultuna
2. Stockholm: Stockholm C, Kulturhusets tak, Sergels torg
3. Dalsland: Bengtsfors I och II
4. Skaraborg: Tidån och Horsås
5. Östergötland: Vikingstad och Tjällmo
6. Norra Skåne: Hästveda
7. Mellersta Skåne: Harlösa och Toreborg
8. Södra Skåne: Kyrkoköpinge och Södra Åby

Figur 1. Karta över lokaler i där bin och pollen samlats in under 2012 för bestämning av växtskyddsmedel.

En mer utförlig förteckning över provtagningslokalerna, samt information om grödor i närområdet, återfinns i Bilaga A. Den instruktion som skickades ut till biodlarna om hur provtagningen skulle gå till återfinns i Bilaga E.

Analysmetoder

Tanken med de utvecklade analysmetoderna var att utifrån ett och samma prov kunna analysera både substanser som lämpar sig för LC och de som fungerar bäst med GC. Vidare var ett mål att använda så små provmängder som möjligt för att vid behov kunna analysera ett fåtal bin, eller till och med enskilda bin, alternativt små mängder insamlat pollen. De beskrivna metoderna baseras därför på fyra bin respektive ca 0,25 g pollen per prov. Om tillgången på prov är stor kan man för att få bättre representativitet använda ett större antal bin eller mängd pollen som homogeniseras, varefter en fraktion motsvarande fyra bin eller 0,25 g pollen tas ut för analys. I denna studie homogeniserades 16 bin från vilka en fjärdedel togs för analys.

Alla koncentrationvärden i denna rapport anges i nanogram per gram provmatrix (ng/g). Ibland anges även koncentrationer i bin som mängd per bi, t.ex. ng/bi. Då bin väger olika mycket är omräkningen mellan dessa enheter inte exakt. Dock kan man som en tumregel säga att ett bi väger ca 0,1 gram vilket leder till att koncentrationsdata presenterade i denna rapport ska divideras med 10 för att få motsvarande ungefärliga koncentration i enheten ng/bi.

Kalibreringskurvor för analys av bin och pollen tillreddes i bi- respektive pollenmatrix. Sex olika kalibreringsnivåer användes där den högsta nivån var 500 gånger högre än den lägsta. Detektionsgränser (LOD) och kvantifieringsgränser (LOQ) som anges i Bilaga D är definierade utifrån de standardkoncentrationer som användes för kalibreringskurvorna. Om t.ex. kromatogrammet för standard 2 bedömts motsvara en rimlig detektionsgräns för den aktuella substansen, med hänsyn taget till signal/brus nivå och kvalificeringsjoner, och sedan

standard 3 uppvisat en tydlig signal med väl definierade kvalificeringsjoner (används för bekräftelse av substansens identitet) och ett återräknat riktighetsvärde (avvikelse från kalibreringslinjen) inom 70-130% har dessa båda standardkoncentrationer angetts som LOD respektive LOQ för substansen.

En mer ingående beskrivning av analysförfarandet återfinns i Bilaga F. För detaljerade instrumentella parameterinställningar hänvisas till de certifierade metoderna OMK51 (GC-MS, NCI) och OMK57 (LC-MS/MS, ESI+) som utvecklats vid OMK labbet, Institutionen för vatten och miljö, SLU, Uppsala.

Förutom bin och pollenkakor samlades även vaxkakor in. Vaxet från dessa analyserades dock inte, dels pga. de analytisk-kemiska svårigheterna att hantera denna mycket feta matris och dels för att vaxet inte bedömdes vara en lika relevant provmatris som bin och pollen, och därmed prioriterades ned.

Resultat

I biproverna detekterades sammanlagt 21 av de undersökta substanserna och i insamlat pollen från pollenkakor detekterades 26 substanser. De allra flesta fynden uppvisade låga koncentrationer kring detektions- eller kvantifieringsgränserna för substanserna. Som mest detekterades 13 olika substanser i ett och samma biprov och 16 olika substanser i ett och samma pollenprov. De högsta uppmätta halterna i studien var för svampmedlen prokloraz som uppvisade koncentrationen 407 ng/g i pollen och för azoxystrobin med koncentrationerna 309 och 42 ng/g i pollen respektive bin. Dessa prover var insamlade från samma område i mellersta Skåne. Tre neonicotinoider, acetamiprid, klotianidin och tiakloprid detekterades i låga koncentrationer (10 ng/g eller lägre) i både bin och insamlat pollen. Mest frekvent förekommande av dessa var tiakloprid med 10 fynd i bin och 6 fynd i pollen.

Uppdelat på substansernas användningsområde återfanns det i biproverna 5 insekticider, 8 fungicider, 6 herbicider och 2 nedbrytningsprodukter, medan det i pollenproverna återfanns 7 insekticider, 8 fungicider, 9 herbicider samt 2 nedbrytningsprodukter.

Antalet fynd och högsta värdet för alla detekterade substanser återfinns i Tabell 1 nedan.

Antalet fynd och den totala exponeringen, summerat över alla mätta substanser, för de olika provlokaler vid de två provtagningstillfällena presenteras nedan i Tabell 2 (bin) och i Tabell 3 (pollen).

Uppmätta koncentrationer i individuella bi- och pollenprover från alla lokaler återfinns i Bilaga B och Bilaga C.

Tabeller med uppskattade detektions- och kvantifieringsgränser för biprover och pollenprover återfinns i Bilaga D.

Tabell 1. Antal fynd och högsta uppmätta koncentration i bin och pollen

Substans	Bin antal fynd	Högsta konc, i bin (ng/g)	Pollen antal fynd	Högsta konc i pollen (ng/g)
acetamiprid (I)	8	1,4	3	2,1
atrazin (H)	-	-	1	<LOQ
azoxystrobin (F)	9	42	8	309
desmedifam (H)	4	5,1	5	15
etofumesat (H)	-	-	1	<LOQ
fenmedifam (H)	5	0,65	5	1,7
fenpropidin (F)	1	0,082	-	-
fenpropimorf (F)	3	14	4	5,6
hexytiazox (I)	-	-	4	4,7
isoproturon (H)	3	0,067	-	-
karbendazim (F, N)	15	1,8	6	0,71
klorfenvinfos (I)	2	12	-	-
kloridazon (H)	4	2,2	5	1,4
klorpyrifos (I)	-	-	1	2,1
klotianidin (I)	5	1,9	2	3,5
metamitron (H)	3	1,9	5	4,7
metribuzin (H)	-	-	1	<LOQ
pikoxystrobin (F)	2	0,17	6	0,83
pirimikarb (I)	-	-	1	<LOQ
prokloraz (F)	2	3,7	2	407
prosulfokarb (H)	-	-	8	2,9
protiokonazol-destio (F, N)	4	1,8	4	<LOQ
pyraklostrobin (F)	7	1,4	4	<LOQ
tau-fluvalinat (I)	1	<LOQ	6	34
terbutryn (H)	1	3,8	-	-
terbutylazin (H)	-	-	2	1,0
terbutylazin-desetyl (H, N)	5	0,28	2	<LOQ
tiaklopid (I)	10	0,6	6	10
tolyfluanid (F)	2	<LOQ	2	<LOQ
trifloxystrobin (F)	-	-	3	0,33

- ej påträffad

F=fungicid, H=herbicid, I=insekticid, N=nedbrytningsprodukt

Tabell 2. Antal fynd och summerad exponering i bin från olika lokaler

Område	Lokal	Antal	Summa halt	Antal	Summa halt
		fynd	(ng/g)	fynd	(ng/g)
		Provomgång maj/juni		Provomgång juli	
Uppland	Knivsta	2	5,7	6	7,7
	Ultuna	1	0,2	2	1,4
Stockholm	Stockholm C	1	12	1	0,04
Dalsland	Bengtsfors I	0	0	1	0,01
	Bengtsfors II	1	0,2	1	0,08
Skaraborg	Horsås	1	0,07	2	1,1
	Tidan	1	3,8	2	0,4
Östergötland	Vikingstad	2	2,9	1	0,04
	Tjällmo	1	1,4	2	0,4
Skåne N	Hästveda	1	0,01	2	0,1
Skåne M	Harlösa	13	12	5	2,3
	Toreborg	13	48	7	3,7
Skåne S	Kyrkoköpinge	13	22	2	0,08
	Södra Åby*	9	9,8	3	1,4

* Sista provet togs i augusti.

Tabell 3. Antal fynd och summerad exponering i pollen från olika lokaler

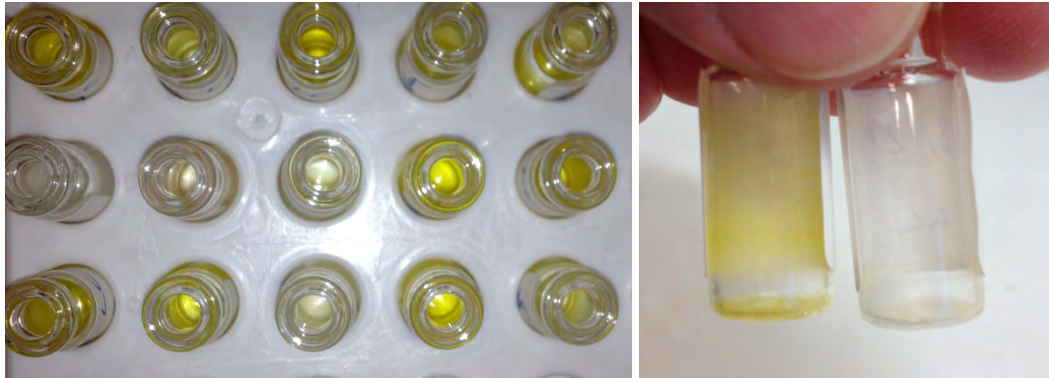
Område	Lokal	Antal	Summa halt	Antal	Summa halt
		fynd	(ng/g)	fynd	(ng/g)
		Provomgång maj/juni		Provomgång juli	
Uppland	Knivsta	1	7,1	5	12
	Ultuna	1	0,1	0	0
Stockholm	Stockholm C	1	0,5	0	0
Dalsland	Bengtsfors I	1	2,2	1	4,1
	Bengtsfors II	2	1,4	-	-
Skaraborg	Horsås	0	0	0	0
	Tidan	-	-	-	-
Östergötland	Vikingstad	2	6,2	2	46
	Tjällmo	2	0,5	0	0
Skåne N	Hästveda	2	5,4	1	0,2
Skåne M	Harlösa	16	700	7	4,7
	Toreborg	13	364	4	4,0
Skåne S	Kyrkoköpinge	12	29	1	0,2
	Södra Åby*	10	16	9	14

* Sista provet togs i augusti.

- Inget prov

Diskussion och observationer

Provmatriser: Bin, pollen och vax är mycket komplexa provmatriser som även efter flera olika upprepningssteg kan ge problem vid själva haltbestämningen, främst vid gaskromatografi. Provmatriserna uppvisar stor variationen från prov till prov. T.ex. kan bin ha mycket olika näringsstatus beroende på vilken föda och hur mycket föda de har tillgång till. I denna studie var vissa biprover väldigt feta, vilket visade sig som en gulaktig, oljig indunstningsrest efter extraktionen och kvävgasindunstningen, medan andra föreföll innehålla betydligt mindre fett, se Figur 2.



Figur 2. Fotot till vänster visar olika biextrakt, vart och ett representerande fyra bin. Till höger visas två provrör efter det att etylacetatextraktet dunstats in under kvävgas. Foton: Ove Jonsson.



Figur 3: Bin med pollenbyxor. Foto: Ove Jonsson.

Som kan ses i Figur 3 hade vissa bin fastsittande pollenbyxor på bakbenen och till viss del även pollen på kroppen i övrigt, medan andra var helt fria från synligt pollen. I görligaste mån avlägsnades pollen från bina före analys.

Alla pollenprover utom ett i denna studie var från pollen insamlat av bin och överfört till celler i vaxkakor inne i kupan. Detta pollen kan anses vara delvis processat genom jäsning och enzymatisk påverkan då bina använder körtelsekret och nektar för att binda ihop

pollenkornen, som sedan packas tätt i vaxkakans celler. Hur detta påverkar halten av olika växtskyddsmedel är oklart. En annan aspekt är att det är relativt svårt att separera det insamlade pollenet från vaxkakorna och att det finns risk att man även får med nektar/honung då detta förvaras i närliggande celler på samma kaka, se Figur 4. Även bitar av vax kan av



Figur 4: Pollen packat i vaxkakor. Foton: Ove Jonsson.

misstag hamna i pollenprovet. För framtida studier är det därför att föredra att pollen samlas in med så kallade pollenfällor som monteras på flustret.



En pollenfälla fungerar så att inkommande bin med pollenbyxor på bakbenen måste passera smala rör för att ta sig in i kupan. Vid passagen skrapas pollenbyxorna av och samlas upp i en behållare under flustret. Figur 5 visar pollen insamlat med pollenfälla.

Figur 5: Pollenbyxor från fälla. Foto: Ove Jonsson.

Bi-exponering: En aspekt vad gäller uppmätta koncentrationer i biprover är att det inte är möjligt att veta var på djuret substanserna återfinns. Om de är upptagna i binas vävnad och fritt cirkulerande, om de sitter bundet i trakéerna alternativt ytligt till exoskelett och behåring, eller kanske lösta i nektar som biet transporterar i honungsblåsan. Hur biet är exponerat får troligen konsekvenser för vilken effekt substansen får på det enskilda biet och på hur substansen förs vidare in i kupan där den potentiellt kan påverka yngel (ägg, larver och puppor), husbin och drottning, samt överförs till honung.

Kvantitativ analys: Att använda det något komplicerade förfarandet med att preparera kalibreringsprover i den faktiska provmatrisen istället för i rent lösningsmedel har för och nackdelar. Fördelen är att eventuella matriseffekter på kromatografi, jonisering, detektorsignal, injektorförångning (GC) etc. är inbyggt i själva analysförfarandet och kalibreringsmodellen. Kalibreringskurvan kan således antas återspegla studieproverna så väl som möjligt. Å andra sidan är variationen mellan olika prover stor och kalibreringsproverna kan inte helt kompensera för detta. En risk med detta tillvägagångssätt är att den matris-pool som används för kalibreringskurvan kan innehålla vissa av de undersökta substanserna vilket gör haltbestämningen vid låga exponeringar och uppskattningen av metodens LOD och LOQ något osäkrare.

Funna halter av växtskyddsmedel: Vad gäller både koncentration och frekvens av de detekterade växtskyddsmedlen syns förekomsten i bin och pollen följa intensiteten i jordbruket, med en tydlig dominans för provlokaler i mellersta och södra Skåne. Generellt detekterades fler substanser vid den tidiga provtagningen i månadsskiftet maj/juni än vid provtagningen i juli.

Slutsatser

- Analysmetoder för bestämning av ca 100 olika växtskyddsmedel i bin och pollen insamlat av bin har utvecklats.
- Detektionsgränserna varierar mycket från substans till substans men för merparten är nivåerna låga nog att vara relevanta för exponeringsstudier och miljöövervakning.
- Vid behov kan enskilda bin, alternativt små mängder pollen analyseras.
- Totalt återfanns 30 olika växtskyddsmedel i de insamlade bi- och pollenproverna.
- De funna koncentrationerna var generellt sett låga i jämförelse med de värden för giftighet som finns angivna i PPDB [5].
- Både antalet fynd och de uppmätta koncentrationerna var högst i mellersta och södra Skåne.
- Om pollen ska analyseras i kommande studier är insamling av pollen med hjälp av pollenfälla att föredra framför pollen från vaxkakor.



Bin i arbete på en vaxkaka. Foto: Ove Jonsson.

Tackord

Bengt Andréasson, Ingvar Arvidsson, Arne Johansson, Preben Kristiansen och Kjell-Erik Nilsson tackas för deras hjälp med insamlandet av prover under sommaren 2012. Henrik Jernstedt, Märit Peterson och Emma Gurnell på OMK laboratoriet tackas för deras insatser i delar av analysarbetet.

Referenser

1. Carl A. Johansen (1977), *Pesticides and pollinators*. Ann. Rev. Entomol, 22, 177-192.
2. Christopher A. Mullin, Maryann Frazier, James L. Frazier, Sara Aschcraft, Roger Simonds, Dennis vanEngelsdorp and Jeffery S. Pettis (2010), *High Levels of Miticides and Agrochemicals in North American Apiaries: Implications for Honey Bee Health*. PLoS ONE, Volume 5, Issue 3.
3. Marie-Pierre Chauzat, Jean-Paul Faucon, Anne-Claire Martel, Julie Lachaize, Nicolas Cougoule and Michel Aubert (2006), *A survey of pesticide residues in pollen loads collected by honey bees in France*. J. Econ. Entomol., 99(2), 253-262.
4. Penelope R. Whitehorn, Stephanie O'Connor, Felix L. Wackers and Dave Coulson (2012), *Neonicotinoid pesticide reduces bumble bee colony growth and queen production*. Science Vol 336, 352-352.
5. PPDB (2013) Pesticide Properties Database.
<http://sitem.herts.ac.uk/aeru/footprint/en/index.htm>

Bilaga A

Provinsamling, lokaler

Tidpunkt	Landskap	Område	Bin	Pollen	Kommentarer
maj/juni	Uppland	Knivsta	X	X	Höstraps 1 km
maj/juni	Uppland	Ultuna	X	X	Eventuellt oljevaxter inom flygavstånd
maj/juni	Stockholm	Stockholm C	X	X	Belägen på Kulturhusets tak vid Sergels torg
maj/juni	Dalsland	Bengtsfors I	X	X	Skog och vall
maj/juni	Dalsland	Bengtsfors II	X	X	Skog, besädd jordbruksmark ca 3 km bort
maj/juni	Skaraborg	Horsås	X	X	Spannmål
maj/juni	Skaraborg	Tidan	X	-	Spannmål
maj/juni	Östergötland	Vikingstad	X	X	Höstraps ca 500 m, spannmål ca 500 m, vall och betesmark
maj/juni	Östergötland	Tjällmo	X	X	Vall med vitklöver, ekologisk <100 m, spannmål ca 500 m, betesmark och skog
maj/juni	Skåne N	Hästveda	X	X	Skog, vall och betesmark, höstraps >2 km
maj/juni	Skåne M	Harlösa	X	X	Höstraps 100 m, råg 200 m, höstvetete 200 m, korn 20 m
maj/juni	Skåne M	Toreborg	X	X	Höstvetete 50 m, höstraps 500 m
maj/juni	Skåne S	Kyrkoköpinge	X	X	Stråsäd 5 m
maj/juni	Skåne S	Södra Åby	X	X	Årtor 20 m, stråsäd 10 m, raps 100 m
juli	Uppland	Knivsta	X	X	Våroljevaxter 1 km, riklig blom av vitklöver
juli	Uppland	Ultuna	X	X X	Våroljevaxter inom flygavstånd (pollen både från vaxkaka och från pollenfälla)
juli	Stockholm	Stockholm C	X	X	Belägen på Kulturhusets tak vid Sergels torg
juli	Dalsland	Bengtsfors I	X	X	Skogsmiljö
juli	Dalsland	Bengtsfors II	X	-	Skogsmiljö
juli	Skaraborg	Horsås	X	X	Odlingsmark, ca 1,5 km till tätort
juli	Skaraborg	Tidan	X	-	Intensivt odlad mark
juli	Östergötland	Vikingstad	X	X	Vårraps, spannmål, vall
juli	Östergötland	Tjällmo	X	X	Vall med vitklöver, spannmål, skog med hallon
juli	Skåne N	Hästveda	X	X	Vall, betesmarker
juli	Skåne M	Harlösa	X	X	Korn 20 m, vete 200 m, höstraps 100 m, vårraps 2,5 km
juli	Skåne M	Toreborg	X	X	Råg 50 m, konservärtor 1,2 km, korn 200 m, höstraps 0,9 km, vårraps 3 km, rödklöver 3 km
juli	Skåne S	Kyrkoköpinge	X	X	Spannmål 5 m
augusti	Skåne S	Södra Åby	X	X	Årtor och spannmål 25 m (insamlat i augusti då det inte fanns pollen att skära ut tidigare)

Bilaga B

Uppmätta koncentrationer (ng/g) av växtskyddsmedel i bin, sorterat på provlokal

Område	Uppland	Uppland	Uppland	Uppland	Stockholm	Stockholm	Dalsland	Dalsland	Dalsland	Dalsland
Lokal	Knivsta	Knivsta	Ultuna	Ultuna	Stockholm C	Stockholm C	Bengtsfors I	Bengtsfors I	Bengtsfors II	Bengtsfors II
Insamlingsdatum	2012-05-29	2012-07-03	2012-05-30	2012-07-13	2012-05-29	2012-07-04	2012-06-04	2012-07-03	2012-06-04	2012-07-03
acetamiprid (I)		1,1		0,041						
azoxystrobin (F)		0,61				0,039				
desmedifam (H)										
fenmedifam (H)										
fenpropidin (F)										
fenpropimorf (F)										
isoproturon (H)										
karbendazim (F, N)	0,045	1,8	0,21					0,012	0,21	0,078
klorfenvinfos (I)	5,7				12					
kloridazon (H)										
klotianidin (I)		1,9		1,4						
metamitron (H)										
pikoxystrobin (F)										
prokloraz (F)										
protiokonazol-destio (N, F)										
pyraklostrobin (F)		(0,026)								
tau-fluvalinat (I)		(2,3)								
terbutryn (H)										
terbutylazin-desetyl (N, H)										
tiaklopid (I)										
tolyfluanid (F)										
<i>Summa alla substanser</i>	<i>5,7</i>	<i>7,7</i>	<i>0,2</i>	<i>1,4</i>	<i>12</i>	<i>0,04</i>	<i>0</i>	<i>0,01</i>	<i>0,2</i>	<i>0,08</i>

Bilaga B, forts.

Uppmätta koncentrationer (ng/g) av växtskyddsmedel i bin, sorterat på provlokal

Område	Skaraborg	Skaraborg	Skaraborg	Skaraborg	Östergötland	Östergötland	Östergötland	Östergötland
Lokal	Horsås	Horsås	Tidan	Tidan	Vikingstad	Vikingstad	Tjällmo	Tjällmo
Insamlingsdatum	2012-05-26	2012-07-02	2012-05-26	2012-07-02	2012-06-05	2012-07-06	2012-05-27	2012-07-09
acetamiprid (I)				0,31	0,034	0,039	1,4	
azoxystrobin (F)								0,15
desmedifam (H)								
fenmedifam (H)								
fenpropidin (F)								
fenpropimorf (F)								
isoproturon (H)								
karbendazim (F, N)	0,070	0,012						
klorfenvinfos (I)								
kloridazon (H)								
klotianidin (I)								0,27
metamitron (H)								
pikoxystrobin (F)								
prokloraz (F)								
protiokonazol-destio (N, F)								
pyraklostrobin (F)								
tau-fluvalinat (I)								
terbutryn (H)			3,8					
terbutylazin-desetyl (N, H)								
tiaklopid (I)				0,052				
tolyfluanid (F)		(1,1)			2,9			
<i>Summa alla substanser</i>	<i>0,07</i>	<i>1,1</i>	<i>3,8</i>	<i>0,4</i>	<i>2,9</i>	<i>0,04</i>	<i>1,4</i>	<i>0,4</i>

Bilaga B, forts.

Uppmätta koncentrationer (ng/g) av växtskyddsmedel i bin, sorterat på provlokal

Område	Skåne	Skåne	Skåne	Skåne	Skåne	Skåne	Skåne	Skåne	Skåne	Skåne
Lokal	Hästveda	Hästveda	Harlösa	Harlösa	Toreborg	Toreborg	Kyrkoköpinge	Kyrkoköpinge	Södra Åby	Södra Åby
Insamlingsdatum	2012-06-03	2012-07-11	2012-05-28	2012-07-03	2012-05-28	2012-07-03	2012-05-24	2012-07-16	2012-05-28	2012-08-23
acetamiprid (I)					0,069	0,35				
azoxystrobin (F)			8,5*	0,064	42*	0,072	0,079		0,025	
desmedifam (H)			1,1		0,91		2,1		5,1	
fenmedifam (H)			0,13		0,11		0,55		0,65	(0,012)
fenpropidin (F)			(0,082)							
fenpropimorf (F)			0,76		(0,11)		14			
isoproturon (H)			0,012		0,023		0,067			
karbendazim (F, N)			0,030	0,56	0,058	1,4	0,11	0,032	0,058	
klorfenvinfos (I)										
kloridazon (H)			0,064		0,11		0,96		2,2	
klotianidin (I)				1,5		1,6				
metamitron (H)					0,31		1,9		1,1	
pikoxystrobin (F)			(0,014)				0,17			
prokloraz (F)			0,22		3,7					
protiokonazol-destio (N, F)			(0,63)		(0,31)		(1,8)		(0,25)	
pyraklostrobin (F)			(0,066)		(0,045)	(0,011)	(0,076)		0,31	1,4
tau-fluvalinat (I)										
terbutryn (H)										
terbutylazin-desetyl (N, H)		(0,08)		(0,1)		(0,21)	(0,28)		(0,14)	
tiaklopid (I)	0,011	0,029	0,21	0,11	0,60	0,013	(0,007)	0,048		0,025
tolyfluanid (F)										
<i>Summa alla substanser</i>	<i>0,01</i>	<i>0,1</i>	<i>12</i>	<i>2,3</i>	<i>48</i>	<i>3,7</i>	<i>22</i>	<i>0,08</i>	<i>9,8</i>	<i>1,4</i>

I=insecticid, F=fungicid, H=herbicid, N=nedbrytningsprodukt

*Extrapolerat värde över standardkurvan

()Värde inom parentes innebär att koncentrationen ligger något under uppskattad LOD men fortfarande uppvisande en tydlig signal.

Bilaga C

Uppmätta koncentrationer (ng/g) av växtskyddsmedel i pollen, sorterat på provlokal

Område	Uppland	Uppland	Uppland	Uppland	Uppland	Stockholm	Stockholm	Dalsland	Dalsland	Dalsland
Lokal	Knivsta	Knivsta	Ultuna	Ultuna	Ultuna [#]	Stockholm C	Stockholm C	Bengtsfors I	Bengtsfors I	Bengtsfors II
Insamlingsdatum	2012-05-29	2012-07-03	2012-05-30	2012-07-13	2012-07-13	2012-05-29	2012-07-04	2012-06-04	2012-07-03	2012-06-04
acetamiprid (I)		2,1			0,63					
atrazin (H)										
azoxystrobin (F)		1,4				0,50				
desmedifam (H)										
etofumesat (H)										
fenmedifam (H)										
fenpropimorf (F)										
hexythiazox (I)		1,1						2,2		1,1
karbendazim (F)			0,13		0,20					
kloridazon (H)										
klorpyrifos (I)										
klotianidin (I)					2,0					
metamitron (H)										
metribuzin (H)										
pikoxystrobin (F)										
pirimikarb (I)		0,13								
prokloraz (F)										
prosulfokarb (H)										
protiokonazol-destio (N)										
pyraklostrobin (F)										
tau-fluvalinat (I)	(7,1)	(7,5)								
terbutylazin (H)										
terbutylazin-desetyl (N)										
tiaklopid (I)										
tolyfluanid (F)									4,1	
trifloxystrobin (F)										0,33
<i>Summa alla substanser</i>	<i>7,1</i>	<i>12</i>	<i>0,1</i>	<i>0</i>	<i>2,8</i>	<i>0,5</i>	<i>0</i>	<i>2,2</i>	<i>4,1</i>	<i>1,4</i>

Bilaga C, forts.

Uppmätta koncentrationer (ng/g) av växtskyddsmedel i pollen, sorterat på provlokal

Område	Skaraborg	Skaraborg	Östergötland	Östergötland	Östergötland	Östergötland	Skåne norra	Skåne norra
Lokal	Horsås	Horsås	Vikingstad	Vikingstad	Tjällmo	Tjällmo	Hästveda	Hästveda
Insamlingsdatum	2012-05-26	2012-07-02	2012-06-05	2012-07-06	2012-05-27	2012-07-09	2012-06-03	2012-07-11
acetamiprid (I)			0,24					
atrazin (H)								
azoxystrobin (F)								
desmedifam (H)								
etofumesat (H)								
fenmedifam (H)								
fenpropimorf (F)								
hexyiazox (I)							4,7	
karbendazim (F)								
kloridazon (H)								
klorpyrifos (I)								
klotianidin (I)								
metamitron (H)								
metribuzin (H)								
pikoxystrobin (F)								
pirimikarb (I)								
prokloraz (F)								
prosulfokarb (H)								(0,23)
protiokonazol-destio (N)								
pyraklostrobin (F)								
tau-fluvalinat (I)			(6,0)	34				
terbutylazin (H)					(0,4)			
terbutylazin-desetyl (N)								
tiaklopid (I)							0,65	
tolyfluanid (F)				12				
trifloxystrobin (F)					0,14			
<i>Summa alla substanser</i>	<i>0</i>	<i>0</i>	<i>6,2</i>	<i>46</i>	<i>0,5</i>	<i>0</i>	<i>5,4</i>	<i>0,2</i>

Bilaga C, forts.

Uppmätta koncentrationer (ng/g) av växtskyddsmedel i pollen, sorterat på provlokal

Område	Skåne mellersta	Skåne mellersta	Skåne mellersta	Skåne mellersta	Skåne södra	Skåne södra	Skåne södra	Skåne södra
Lokal	Harlösa	Harlösa	Toreborg	Toreborg	Kyrkoköpinge	Kyrkoköpinge	Södra Åby	Södra Åby
Insamlingsdatum	2012-05-28	2012-07-03	2012-05-28	2012-07-03	2012-05-24	2012-07-16	2012-05-28	2012-08-23
acetamiprid (I)								
atrazin (H)					(0,26)			
azoxystrobin (F)	260*	0,74	309*	0,36	0,38			(0,06)
desmedifam (H)	15		7,3		10		5,5	5,6
etofumesat (H)							(1,8)	
fenmedifam (H)	1,1		0,74		1,7		0,34	0,43
fenpropimorf (F)	(4,0)		(0,5)		(5,6)			(0,5)
hexytiazox (I)								
karbendazim (F)	0,23		0,17		0,71		0,15	
kloridazon (H)	0,65		0,65		1,4		0,82	0,44
klorpyrifos (I)								2,1
klotianidin (I)				3,5				
metamitron (H)	4,7	1,4	2,0		3,2		1,7	
metribuzin (H)	(1,6)							
pikoxystrobin (F)	0,34	0,16	0,41	0,10	0,83			0,11
pirimikarb (I)								
prokloraz (F)	407*		31*					
prosulfokarb (H)	0,38	(0,31)	(0,2)		2,9		0,90	1,9
protiokonazol-destio (N)	3,5	(1,9)	(2,0)		(2,2)			
pyraklostrobin (F)	(0,28)	(0,14)			(0,20)		(0,19)	
tau-fluvalinat (I)							(4,0)	(3,2)
terbutylazin (H)	1,0							
terbutylazin-desetyl (N)	(0,51)		(0,38)					
tiaklopid (I)	(0,06)	(0,06)	10	(0,07)		0,20		
tolyfluanid (F)								
trifloxystrobin (F)							(0,1)	
<i>Summa alla substanser</i>	<i>700</i>	<i>4,7</i>	<i>364</i>	<i>4,0</i>	<i>29</i>	<i>0,2</i>	<i>16</i>	<i>14</i>

I=insekticid, H=herbicid, F=fungicid, N=nedbrytningsprodukt *Extrapolerat värde över standardkurvan #Insamlat med pollenfälla

() Värde inom parentes innebär att koncentrationen är något under uppskattad LOD men fortfarande uppvisande en tydlig signal

Bilaga D

Uppskattade detektionsgränser (LOD) och kvantifieringsgränser (LOQ) i bi- och pollenprover

Metodik	Substansnamn	LOD ^a Bin	LOQ ^a Bin	LOD ^a Pollen	LOQ ^a Pollen
		ng/g	ng/g	ng/g	ng/g
LC-MS/MS (ES+)	acetamiprid ^b	0,0078	0,039	0,067	0,33
LC-MS/MS (ES+)	alaklor	1,9	9,7	17	33
LC-MS/MS (ES+)	amisulbrom	9,7	49	83	167
LC-MS/MS (ES+)	atrazin	0,19	0,39	0,33	0,67
LC-MS/MS (ES+)	atrazindesetyl	0,39	1,9	0,67	3,3
LC-MS/MS (ES+)	atrazindesisopropyl	1,9	9,7	3,3	17
LC-MS/MS (ES+)	azoxystrobin ^b	0,0078	0,039	0,067	0,33
LC-MS/MS (ES+)	BAM	0,39	1,9	0,67	0,33
LC-MS/MS (ES+)	bifenox	4,9	9,7	17	83
LC-MS/MS (ES+)	bitertanol	0,97	1,9	3,3	17
LC-MS/MS (ES+)	cyanazin	0,19	0,39	0,67	3,3
LC-MS/MS (ES+)	cyazofamid	0,19	0,39	3,3	6,7
LC-MS/MS (ES+)	cyflufenamid	0,39	1,9	3,3	6,7
LC-MS/MS (ES+)	cyprodinil	0,39	1,9	3,3	6,7
LC-MS/MS (ES+)	desmedifam ^b	0,97	1,9	3,3	17
LC-MS/MS (ES+)	difenokonazol	0,19	0,39	0,67	3,3
LC-MS/MS (ES+)	diflufenikan	0,19	0,97	1,7	3,3
LC-MS/MS (ES+)	diklorvos	1,95	9,7	3,3	17
LC-MS/MS (ES+)	dimetoat	0,19	0,39	0,33	0,67
LC-MS/MS (ES+)	diuron	0,39	1,9	3,3	6,7
LC-MS/MS (ES+)	epoxikonazol	1,9	9,7	3,3	17
LC-MS/MS (ES+)	etofumesat	1,9	3,9	3,3	6,7
LC-MS/MS (ES+)	fenarimol	49	97	17	83
LC-MS/MS (ES+)	fenmedifam ^b	0,0078	0,039	0,067	0,33
LC-MS/MS (ES+)	fenpropidin	0,20	0,39	-	-
LC-MS/MS (ES+)	fenpropimorf ^b	0,14	0,69	5,9	12
LC-MS/MS (ES+)	fludioxonil	0,39	1,9	3,3	6,7
LC-MS/MS (ES+)	flurprimidol	0,39	1,9	3,3	6,7
LC-MS/MS (ES+)	flurtamon	0,0078	0,039	0,33	0,67
LC-MS/MS (ES+)	flusilazol	0,19	0,39	0,33	0,67
LC-MS/MS (ES+)	fuberidazol	0,039	0,19	0,33	0,67
LC-MS/MS (ES+)	hexazinon	0,039	0,19	0,33	0,67
LC-MS/MS (ES+)	hexytiazox	0,19	0,97	0,33	1,67
LC-MS/MS (ES+)	imazalil	0,97	4,9	8,3	17
LC-MS/MS (ES+)	imidaklopid	0,19	0,39	3,3	6,7
LC-MS/MS (ES+)	isoproturon	0,008	0,039	0,33	0,67
LC-MS/MS (ES+)	karbendazim ^b	0,008	0,039	0,067	0,33
LC-MS/MS (ES+)	karbofuran	0,039	0,19	0,067	0,33
LC-MS/MS (ES+)	karfentrazonetyl	0,19	0,39	0,67	3,3
LC-MS/MS (ES+)	klomazon	0,039	0,19	0,33	0,67
LC-MS/MS (ES+)	klorfenvinfos	0,10	0,52	0,89	4,5

Metodik	Substansnamn	LOD ^a Bin	LOQ ^a Bin	LOD ^a Pollen	LOQ ^a Pollen
		ng/g	ng/g	ng/g	ng/g
LC-MS/MS (ES+)	kloridazon ^b	0,039	0,19	0,33	0,67
LC-MS/MS (ES+)	klotianidin	0,19	0,97	1,7	3,3
LC-MS/MS (ES+)	linuron	0,39	1,9	3,3	6,7
LC-MS/MS (ES+)	mandipropamid	0,39	1,9	0,67	3,3
LC-MS/MS (ES+)	metabenstiazuron	0,19	0,39	0,33	0,67
LC-MS/MS (ES+)	metalaxyl	0,19	0,39	0,33	0,67
LC-MS/MS (ES+)	metamitron	0,19	0,39	0,67	3,3
LC-MS/MS (ES+)	metazaklor	0,19	0,39	0,33	0,67
LC-MS/MS (ES+)	metiokarb	0,39	1,9	0,67	3,3
LC-MS/MS (ES+)	metolaklor	0,39	1,9	0,67	3,3
LC-MS/MS (ES+)	metrafenon	0,19	0,39	0,67	3,3
LC-MS/MS (ES+)	metribuzin	0,97	1,9	1,7	3,3
LC-MS/MS (ES+)	pendimetalin	1,9	9,7	3,3	17
LC-MS/MS (ES+)	penkonazol	1,9	3,9	3,3	6,7
LC-MS/MS (ES+)	pikoxystrobin ^b	0,0078	0,039	0,067	0,33
LC-MS/MS (ES+)	pirimikarb	0,19	0,39	0,067	0,33
LC-MS/MS (ES+)	prokloraz	0,19	0,97	1,7	3,3
LC-MS/MS (ES+)	propikonazol	1,9	9,7	17	33
LC-MS/MS (ES+)	propyzamid	0,39	1,9	3,3	6,7
LC-MS/MS (ES+)	prosulfokarb	0,19	0,97	0,33	1,7
LC-MS/MS (ES+)	protiokonazol-destio	1,9	3,9	3,3	6,7
LC-MS/MS (ES+)	pyraklostrobin ^b	0,19	0,39	0,33	0,67
LC-MS/MS (ES+)	quinoxifen	0,039	0,19	0,067	0,33
LC-MS/MS (ES+)	siltiofam	0,39	1,9	0,67	3,3
LC-MS/MS (ES+)	simazin	0,19	0,39	0,33	0,67
LC-MS/MS (ES+)	spiroxamin	0,39	1,9	-	-
LC-MS/MS (ES+)	terbutryn ^b	0,039	0,19	1,7	3,3
LC-MS/MS (ES+)	terbutylazin	0,19	0,39	0,67	3,3
LC-MS/MS (ES+)	terbutylazindesetyl	0,39	1,9	0,67	3,3
LC-MS/MS (ES+)	tiakloprid ^b	0,0078	0,039	0,067	0,33
LC-MS/MS (ES+)	tiametoxam	0,19	0,39	0,67	3,3
LC-MS/MS (ES+)	tolklofosmetyl	9,7	49	83	167
LC-MS/MS (ES+)	tolyfluanid	1,9	9,7	3,3	17
LC-MS/MS (ES+)	tribenuronmetyl	0,39	1,9	0,67	3,3
LC-MS/MS (ES+)	trifloxystrobin	0,039	0,19	0,067	0,33
LC-MS/MS (ES+)	triflusulfuronmetyl	1,9	3,9	-	-
LC-MS/MS (ES+)	triticonazol	1,9	3,9	6,7	-
GC-MS (NCI)	a-cypermeterin	1,2	2,4	2,1	4,2
GC-MS (NCI)	aldrin	2,4	4,9	4,2	8,3
GC-MS (NCI)	cyflutrin	4,9	24	4,2	8,3
GC-MS (NCI)	deltametrin	2,4	4,8	4,1	8,3
GC-MS (NCI)	endosulfan-alfa	0,24	0,48	0,83	4,1
GC-MS (NCI)	endosulfan-beta	0,24	0,48	0,41	0,83
GC-MS (NCI)	endosulfansulfat	0,48	2,4	0,83	4,1

Metodik	Substansnamn	LOD ^a Bin	LOQ ^a Bin	LOD ^a Pollen	LOQ ^a Pollen
		ng/g	ng/g	ng/g	ng/g
GC-MS (NCI)	es-fenvalerat	0,73	1,5	1,3	2,5
GC-MS (NCI)	HCH-alfa	0,48	2,4	4,1	8,3
GC-MS (NCI)	HCH-beta	1,5	7,3	1,3	2,5
GC-MS (NCI)	HCH-delta	2,4	4,8	4,1	8,3
GC-MS (NCI)	HCH-gamma	0,48	2,41	0,83	4,1
GC-MS (NCI)	heptaklor	12	24	4,2	21
GC-MS (NCI)	heptaklorepoxyd	2,4	4,9	4,2	8,3
GC-MS (NCI)	klordan-alfa	4,9	9,8	1,7	8,4
GC-MS (NCI)	klordan-gamma	0,24	0,48	0,41	0,83
GC-MS (NCI)	klorpyrifos	0,049	0,24	0,41	2,1
GC-MS (NCI)	lambda-cyhalotrin	0,97	4,8	0,17	0,83
GC-MS (NCI)	permetrin	20	98	17	34
GC-MS (NCI)	tau-fluvalinat	5,4	27	9,2	46
GC-MS (NCI)	vinklozolin	0,12	0,24	0,21	0,42

^a Värdena för detektionsgränser (LOD) och kvantifieringsgränser (LOQ) är definierade utifrån koncentrationen i de standardprover som används för kalibreringskurvan.

^b Substansen fanns in den bi-/pollenmatris som användes för tillverkning av standardkurvor varför bedömningen av LOD och LOQ försåras något.

Bilaga E

Instruktion för provinsamling.



Sveriges lantbruksuniversitet
Ingemar Fries & Jenny Kreuger

2012-05-15

INSTRUKTIONER FÖR INSAMLING AV BIN, POLLEN OCH VAX SCREENING INOM MILJÖÖVERVAKNINGEN 2012

(första insamlingen genomförs i slutet av maj och andra insamlingen i slutet av juni)

1. BIN: Samla in minst 50 st bin och för över dessa i en glasflaska som tillhandahålls av labbet. Bina fångas på flustret efter att detta förseglats vid flygväder.
2. POLLEN: Skär med en ren kniv ut en kakbit som passar i en stor tändsticksask från en pollenkaka som bedöms som färsk. Vira aluminiumfolie runt kakbiten innan den läggs i asken.
3. VAX: Skär med en ren kniv ut en kakbit som passar i en stor tändsticksask från en vaxkaka med gammalt mörkt vax. Vira aluminiumfolie runt kakbiten innan den läggs i asken.
4. Undvik att förorena provet genom att använda väl rengjorda verktyg och rena händer.
5. Märk flaskan, på tejp, med följande uppgifter: **lokals namn, kupans nummer, datum och provtyp**. Använd vattenfast tusch eller kulspets.
6. Märk tändsticksaskarna på motsvarande sätt (använd gärna frystejp som fästs runt hela asken): **lokals namn, kupans nummer, datum och provtyp**. Använd vattenfast tusch eller kulspets.
7. Placera flaskan och askarna i en frys.
8. Fyll i ett svarsmeddelande som ska följa med i lådan till labbet.
9. Flaskorna och askarna skickas per post till SLU, OMK-labbet, Inst. för vatten och miljö, Gerda Nilssons väg 5, 756 51 Uppsala. Använd de förtryckta adressetiketterna som följer med transportlådan. Prover måste postas i början av veckan (ej senare än onsdag) för att paketet säkert ska hinna fram innan helgen. Lägg i frysta kylklampar i transportlådan tillsammans med flaskorna och askarna. Glöm inte svarsmeddelandet.
10. Skriv av numret som kallas KollID och finns på adressetiketten och spara numret en vecka. Numret behövs för att kunna spåra lådan ifall den skulle komma bort på posten. Meddela per e-post (jenny.kreuger@slu.se) eller per telefon (0705-67 24 62) att prover är på väg så vi kan bevaka att de kommer fram (sommarmånaderna kan ibland vara besvärliga).

Tveka inte att kontakta Ingemar Fries 070-225 37 79 eller Jenny Kreuger 0705-67 24 62

Bilaga F

Analysmetodik, provupparbetning.

Kortfattad metodbeskrivning

1. Invägning av bin eller pollen.
Ett lämpligt antal bin vägs. Analysen baseras på ett prov motsvarande fyra bin, dvs ca 0,4-0,5 g, men ett större antal kan vägas in och homogeniseras med torkmedel, varefter ett delprov motsvarande fyra bin tas ut genom vägning. För pollenprover vägs ca 0,25 g in.
2. Tillsatts av torkmedel (Na_2SO_4).
3. Homogenisering.
4. Tillsatts av intern standard.
5. Extraktion med etylacetat under ultraljud.
6. Upprening med dispersiv fastfas (C18 och PSA).
7. Indunstning följt av återlösning med acetonitril för LC bestämning och cyklohexan:acetone 9:1 för GC bestämning.
8. Kromatografisk haltbestämning
LC-MS/MS (ES+) reversed phase kromatografi (C18), 10 μl injektion, metanolgradient pH 4.
GC-MS(NCI), med temperaturprogramerbar injektor, och 5 % phenyl kolonn, 2 μl injiceras.

Analysmetodik, kalibreringsprover

Kalibreringsprover för upprättande av standardkurvor som används till kvantifiering tillverkades i bi- respektive pollenmatris. För bialysen homogeniserades totalt drygt 100 bin från de olika insamlade proverna (alla prover representerade) med torkmedel varpå delprover motsvarande vikten av fyra bin togs ut till varje kalibreringsprov. Dessa delprover spikades sedan med lämpliga mängder spikningslösning innehållande både substanser som bestäms med GC-MS och de som bestäms med LC-MS/MS. För pollenanalysen användes ett homogent av de pollenbyxor som samlats in med pollenfällor i Uppland i juli för beredning av kalibreringsprover.

Analysmetodik, LC-MS/MS och GC-MS bestämning

Analyserna utfördes med den instrumentering och de inställningar som används för det certifierade miljöövervakningsarbetet vid laboratoriet för organisk miljö kemi. För detaljer hänvisas till metodbeskrivningar för OMK57 (LC-MS/MS) och OMK51 (GC(NCI)-MS).