

858

NORSK INSTITUTT FOR VANNFORSKNING
Blindern

0-5/76

UNDERSØKELSE AV PAH FRA FERROSILICIUMSTØV

Algetester med lave konsentrasjoner av
benzo(a)pyrene og benzo(a)anthracene

Saksbehandler: Jon Knutzen

Medarbeider: Truls Krogh

Instituttssjef: Kjell Baalsrud

15. 12. 76

FORORD

Foreliggende undersøkelse er utført som del av et oppdrag for A/S Fesil & Co. ifølge programforslag av 8/1-1976, akseptert av oppdragsgiver i brev av 12/2-1976. De øvrige delene av oppdraget omfatter analyse av PAH-innholdet i ferrosiliciumstøv og en litteraturstudie over PAH's egenskaper, kilder, forekomst og virkninger; dessuten undersøkelse av bakgrunnsverdier av PAH i et lite utvalg av norske overflatevanntyper. Disse delene vil bli rapportert for seg.

Ved instituttet har ingeniør L. Berglind vært behjelpelig med fremstilling av stamløsningene av PAH, og siv.ing. Truls Krogh har hatt ansvaret for gjennomføringen av algetestene.

Oslo, 15. desember 1976

Jon Knutzen

1. INNLEDNING

Ved tidligere eksperimenter med alger er det sannsynliggjort at i hvert fall enkelte polysykliske aromatiske hydrokarboner kan ha virkning på veksten. Til dels dreier det seg om en vekststimulans, til dels om hemningsreaksjoner (Boney og Corner 1962, Boney 1974, Gräf og Nowak 1966). Vekststimulans ved påvirkning med benzo(a)pyrene, dibenzo(a,h)anthracene og benzo(a)anthracene er også påvist hos høyere planter (Gräf og Nowak 1966). Videre er det i et PAH-belastet område funnet unormal cellevekst (Ishio & al. 1971). Fra vannet ble det isolert en PAH-forbindelse (et oksygenholdig benzoanthracenederivat), som ved senere laboratorieeksperimenter fremkalte de samme kreftsymptomene (Ishio & al. 1972 a, b). En del av resultatene fra de nevnte undersøkelser med algekulturer er vist i nedenstående tabell

Det kan tilføyes at Boney og Corner gjorde sine tester med *Anthithamnion plumula* og andre saltvannsrødalger, mens de gjengitte resultatene fra Gräf og Nowak refererer seg til ferskvannsgrønnalgen *Chlorella vulgaris*. Enkelte forsøk med en del andre forbindelser har vist mindre eller ingen effekt (Boney 1974).

Det fremgår av tabellen at samme PAH-forbindelse synes å kunne være både vekststimulerende og veksthemmende, avhengig av konsentrasjonene og kontakttiden. Ved flere døgns kontakttid synes den stimulerende effekten å være begrenset til konsentrasjoner under 0.1 mg/l. Resultatene er lite entydige. Blant annet er det også verd å bemerke at man både har kunnet konstatere redusert og økt gjennomsnittlig celledørrelse (henholdsvis Boney 1974, Gräf og Nowak 1966). I denne forbindelse kan nevnes at det ved forsøk med avløpsvann fra aluminiumsindustri er konstatert en svak minskning i midlere cellevolum hos diatoméen (kiselalgen) *Phaeodactylum tricorutum* (NIVA 1975).

Mengden av PAH i avfall fra ferrolegeringsindustrien må forventes å variere mye med produkt og produksjonsforhold. Selv på det nærmeste kvantitativ utluting av PAH fra ferrosiliciumstøv har imidlertid gitt

Tabell 1. Utvalgte resultater av algetester med PAH

PAH-forbindelse	Konsentrasjon (mg/l)	Kontaktetid/ Dyrkingsperiode	Resultat (Stimulans + Hemming -)	Referanse
20-Methylcholanthrene	0.003 - 0.1	96 t	+ 1)	Boney og Corner 1962
	1.0 - 2.0	0.5-1.0 t	+ 2)	
9, 10-Dimethyl - 1, 2-benzanthracene ^{xx}	0.01-0.1	96 t	+	Boney og Corner 1962
6-Methyl - 1, 2-benzanthracene	0.01-0.1	96 t	+	
3, 4-benzpyrene ^{xx} (Benzo(a)pyrene)	0.01-0.1	96 t	+	
1, 2-Benzanthracene ^x (Benzo(a)anthracene)	0.01-0.3	168 t	-	Boney og Corner 1962
1,2,3,4-Dibenzanthracene ^x	0.01	168 t	+	
"	0.03-0.3	168 t	-	
1,2,7,8-Dibenzanthracene ^x	0.01	168 t	+	
"	0.1 -0.3	168 t	-	
1,2,5,6-Dibenzanthracene ^{xx} (Dibenzo(a,h)anthracene)	0.01-0.03	168 t	+	
"	0.3	168 t	-	
3,4-Benzpyrene ^{xx}	0.01	3 uker ³⁾	+	Gräf og Nowak 1966
1,2-Benzanthracene ^{x)}	0.02	3 uker	+	
1,2,5,6-Dibenzanthracene ^{xx}	0.02	3 uker	+	
3-4 Benzpyrene ^x	2.0 -3.0	0.5 t	+ ⁴⁾	Boney 1974
Chrysene ^x	0.3	96 (168) t	+	

^{xx} Sterkt kreftfremkallende

^x Svakt eller ikke kreftfremkallende

1) Relativt svak stimulans for 0.003 mg/l, markert for 0.01 mg/l

2) Bare svak økning i cellevekst for 1 mg/l x 0.5 t og 2 mg/l x 1.0 t, større for 1 mg/l x 1 t og 2 mg/l x 0.5 t.

3) Også økning i gjennomsnittlig cellestørrelse

4) Økt celledelingsfrekvens, minsket gjennomsnittlig cellestørrelse

lave eller moderate konsentrasjoner (NIVA 1976 a (upubl.)). Konsentrasjonene i sigevann fra støvdeponier må derfor forventes å være lave. Det har vært ansett av interesse å gjøre noen orienterende forsøk med alger i lavere PAH-konsentrasjoner enn det som er rapportert i ovennevnte publikasjoner.

Eksperimentene er utført med to tilgjengelige PAH-forbindelser, som samtidig er kjente bestanddeler av avfallsstøv/slam og avløpsvann fra ferrolegeringsindustri (NIVA 1976 a, b, c, d (upubl.)), nemlig benzo(a)pyrene og benzo(a)anthracene. Som nevnt ovenfor kan den første av disse forbindelsene være sterkt kreftfremkallende overfor dyr og mennesker, mens den andre bare har svak virkning i denne henseende.

2. MATERIALE OG METODER

På grunn av PAH-forbindelsenes lave løselighet i vann ble det først laget to stamløsninger i metanol med konsentrasjon 10 mg/l. Til testkolbene med 50 ml standard kulturmedium (NIVA 1976 e) ble det tilsatt henholdsvis 0.5, 5 og 50 μ l, slik at de endelige konsentrasjonene ble 0.1, 1 og 10 μ g/l. (Til sammenligning kan nevnes at man for benzo(a)pyrene må regne sterkt varierende konsentrasjoner i overflatevann, fra mindre enn 10^{-4} μ g/l i upåvirkede områder, til 10^{-2} - 1 μ g/l i mer belastede vannforekomster. Den egentlige variasjon i naturlige bakgrunns-konsentrasjoner er imidlertid utilstrekkelig kjent.)

Testalge var saltvannsdiatoméen *Phaeodactylum tricorutum* som ble tilsatt kulturkolbene i en utgangskonsentrasjon på ca. 10^6 celler/l. Dyrkingen foregikk i 100 ml Erlenmeyerkolber på rystebord under standard betingelser (NIVA 1976 e).

Veksten ble målt ved daglige uttak av prøver fra testkolbene og telling i Coulter Counter. Forsøket ble avsluttet når det ikke lenger var tilvekst i kulturene. Det ble brukt to kontroller (en med bare sjøvannsmediet og en tilsatt høyeste konsentrasjon av metanol) og tre paralleler for hver konsentrasjon.

3. RESULTATER OG DISKUSJON

Vekstkurvene fremgår av fig. 1-2.

Det sees at vekstutbyttet var tilnærmet det samme ved alle konsentrasjoner av de to testede stoffer som i sjøvannskontrollen. De undersøkte konsentrasjonene har med andre ord ikke hatt noen virkning i form av redusert produksjon.

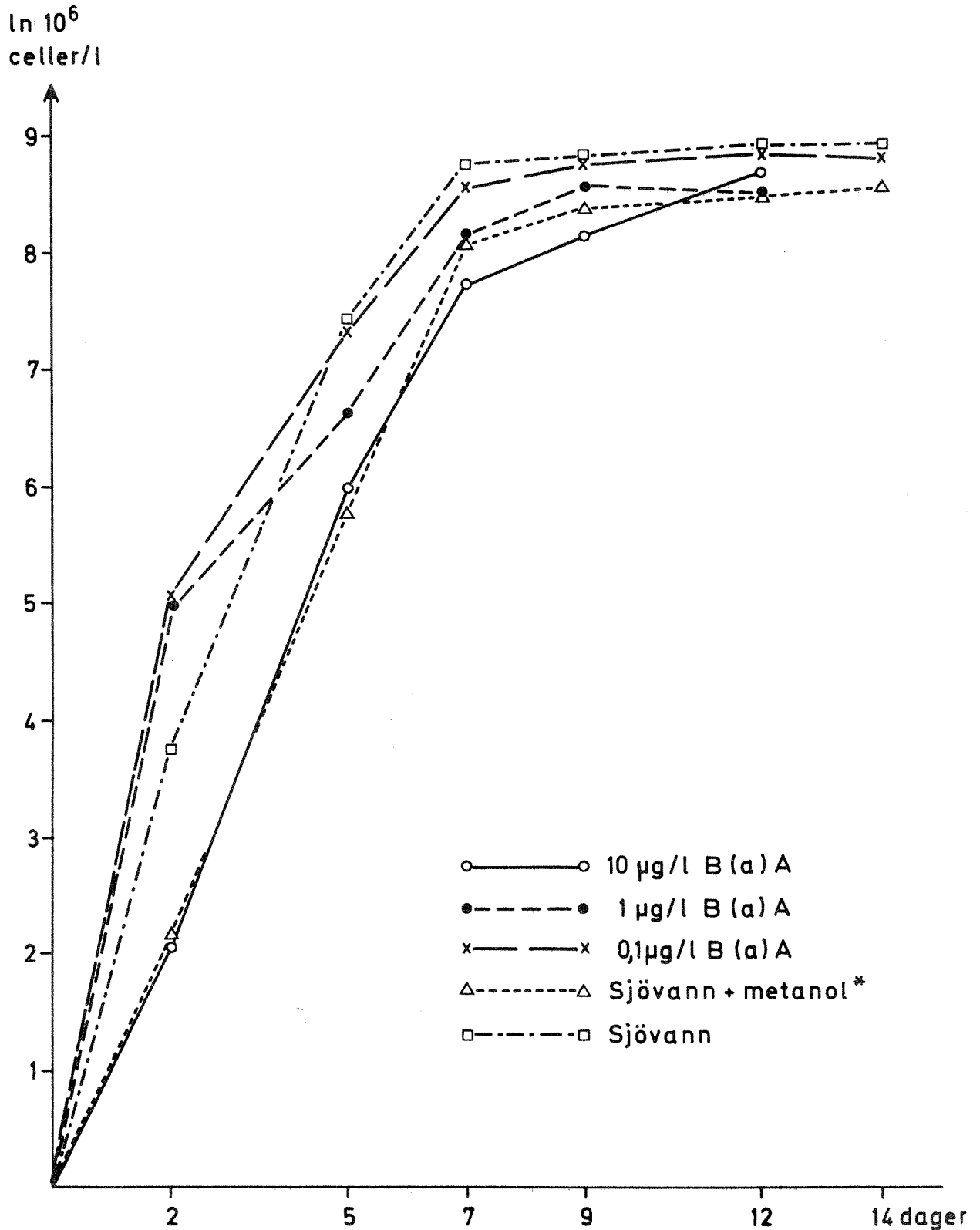
For de høyeste konsentrasjonene var veksthastigheten noe nedsatt de par første dagene, men det var bare ved 10 µg/l av benzo(a)pyrene at vekstkurven var litt forskjellig fra det man fikk i kontrollen med høyeste konsentrasjon av løsningsmiddelet.

I kulturene med den høyeste konsentrasjonen av benzo(a)anthracene (B(a)A) fikk man en avvikende celleform. Alle cellene i de tre parallellene var smalere enn normalt. Samme smale celletype opptrådte i noe varierende forekomst i enkelte av de øvrige kulturene. For B(a)A ble det ikke registrert noen slike celler ved 0.1 µg/l, mens de utgjorde en tydelig andel av cellene ved 1 µg/l. I testene med benzo(a)pyrene (B(a)P) ble det ikke funnet smalvokste celler ved 10 µg/l, derimot noen eksemplarer ved både 0.1 og 1 µg/l.

Vekstutbyttet målt som celletetthet indikerer at testsubstansene ved de gitte konsentrasjoner og øvrige betingelser neppe har negative konsekvenser. Forandringen av cellenes størrelse kan derimot være en illustrasjon av at det dreier seg om en gruppe av biokjemisk utpreget aktive stoffer. Imidlertid er det her vanskelig å forklare den delvise mangelen på sammenheng mellom konsentrasjon og effekt (B(a)P). Muligheten av naturlig formvariasjon representerer en usikkerhet, men dette er ikke uten videre sannsynlig ut fra instituttets erfaring med testorganismen.

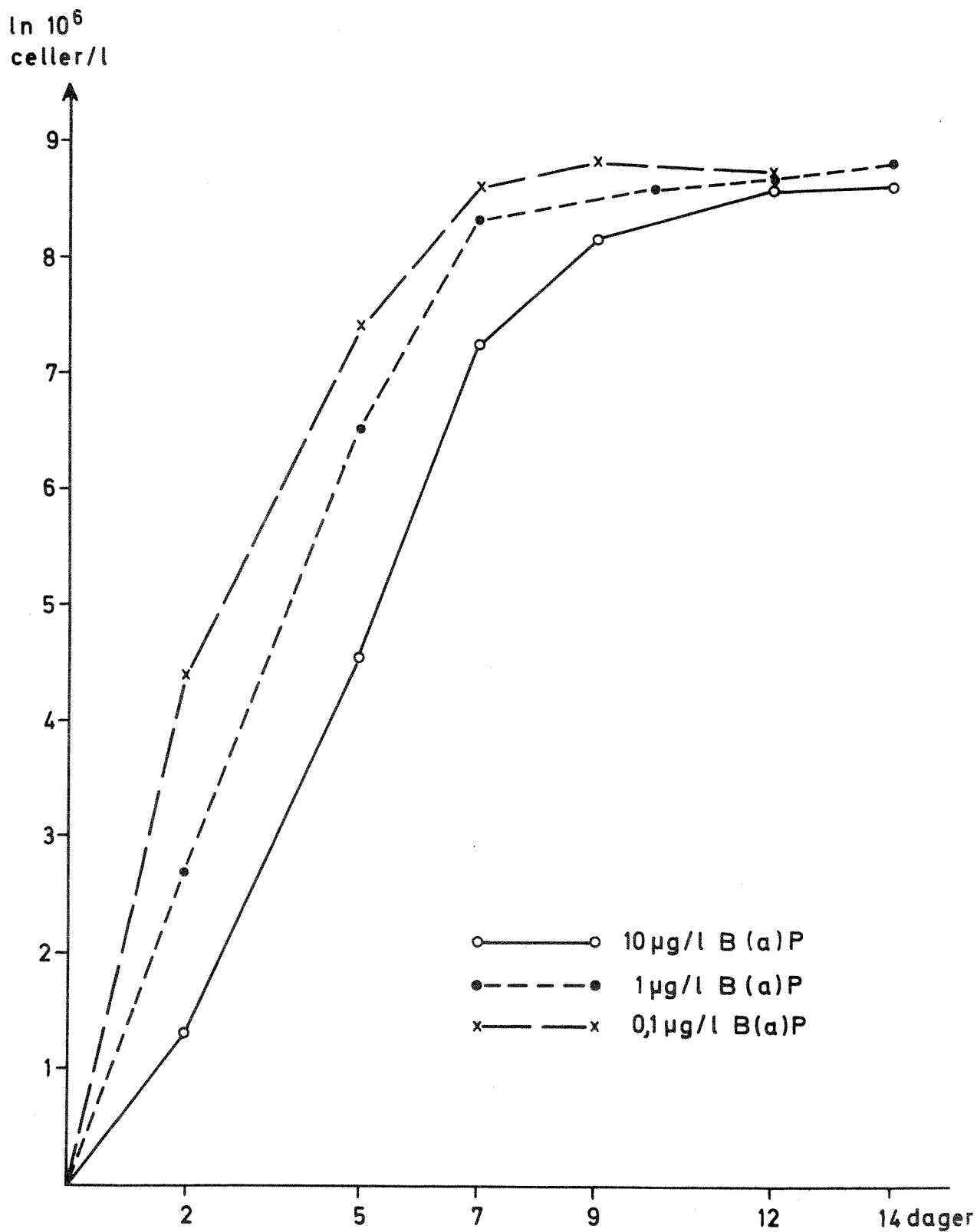
For å kunne si noe bestemt om virkningen i naturen trengs et utvidet kunnskapsgrunnlag i form av flere tester med alger såvel som representanter for andre typer av organismer. Dette er primært en forskningsoppgave, som instituttet vil forsøke å gå videre med.

Fig.1 Vekst av *Phaeodactylum tricornutum* i tre konsentrasjoner av benzo (a) anthracene og kontrollkulturer



* Metanolkonsentrasjon = 1 ml/l

Fig.2 Vekst av *Phaeodactylum tricornutum* i tre konsentrasjoner av benzo (a) pyrene



Med hensyn til PAH's eventuelle skadelige effekter og graden av disse står man overfor en uoversiktlig situasjon. Avfallsets form og sammensetning er meget varierende. Det samme er de måter som stoffene tilføres omgivelsene på. Av disse grunner vil det muligens være mest formålstjenelig å teste de forskjellige avfallstyper direkte og med metoder avpasset etter de ulike former for belastning, selv om man dermed går glipp av informasjoner om hvilke PAH-forbindelser som utgjør de aktive komponenter.

4. HENVISNINGER

- Boney, A.D. og Corner, E.D.S. 1962. On the effects of some carcinogenic hydrocarbons on the growth of sporelings of marine algae. J. mar. biol. Ass. U.K. 42: 579-585.
- Boney, A.D. 1974. Aromatic hydrocarbons and the growth of marine algae. Mar. Poll. Bull. 5(12): 185-186.
- Gräf, W. og Nowak, W. 1966. Wachstumsförderung bei niederen und höheren Pflanzen durch kanzerogene polyzyklische Aromate. Arch. Hyg. Bakt. 150: 513-528.
- Ishio, S., Yano, T. og Nakagana, R. 1971. Algal cancer and causal substances in wastes from the coal chemical industry. Proc. 5th. Int. Water Poll. Conf. San Francisco & Hawaii, July-August 1970, s. III-18/1 - III-18/8.
- Ishio, S., Kawabe, K. og Tomiyama, T. 1972 a. Algal cancer and its causes - I. Carcinogenic potencies of water and suspended solids discharged to the river Ohmuta. Bull. Jap. Soc. Sci. Fish. 38(1): 17-24.
- Ishio, S., Nakagawa, H. og Tomiyama, T. 1972 b. Algal cancer and its causes - II. Separation of carcinogenic compounds from sea bottom mud polluted by wastes of the coal chemical industry. Bull. Jap. Soc. Sci. Fish. 38(6): 571-576.

Norsk institutt for vannforskning 1975: Utslipp av avløpsvann fra Lista Aluminiumsverk. Kontrollundersøkelser 1973/74. Stensilert, 48 s.

Norsk institutt for vannforskning 1976 a (upubl.). Brev til A/S FESIL & CO. av 9/9-1976.

Norsk institutt for vannforskning 1976 b. 0-51/74 Resipientundersøkelse av Saudafjorden. Observasjoner av hydrografi, sedimenter og biologiske forhold 10-13/9-1974. Stensilert, 138 s. + vedlegg.

Norsk institutt for vannforskning 1976 c. 0-97/75 og 0-107/75. Utvasking av slamprøver fra Tinfos Jernverk A/S og Tinfos Jernverk A/S, Øye Smelteverk. Stensilert, 30 s.

Norsk institutt for vannforskning 1976 d (upubl.). Brev av 7/9-1976 til Elkem-Spigerverket A/S.

Norsk institutt for vannforskning 1976 e. D2-25 Estimation of algal growth potential, Stensilert, 32 s.