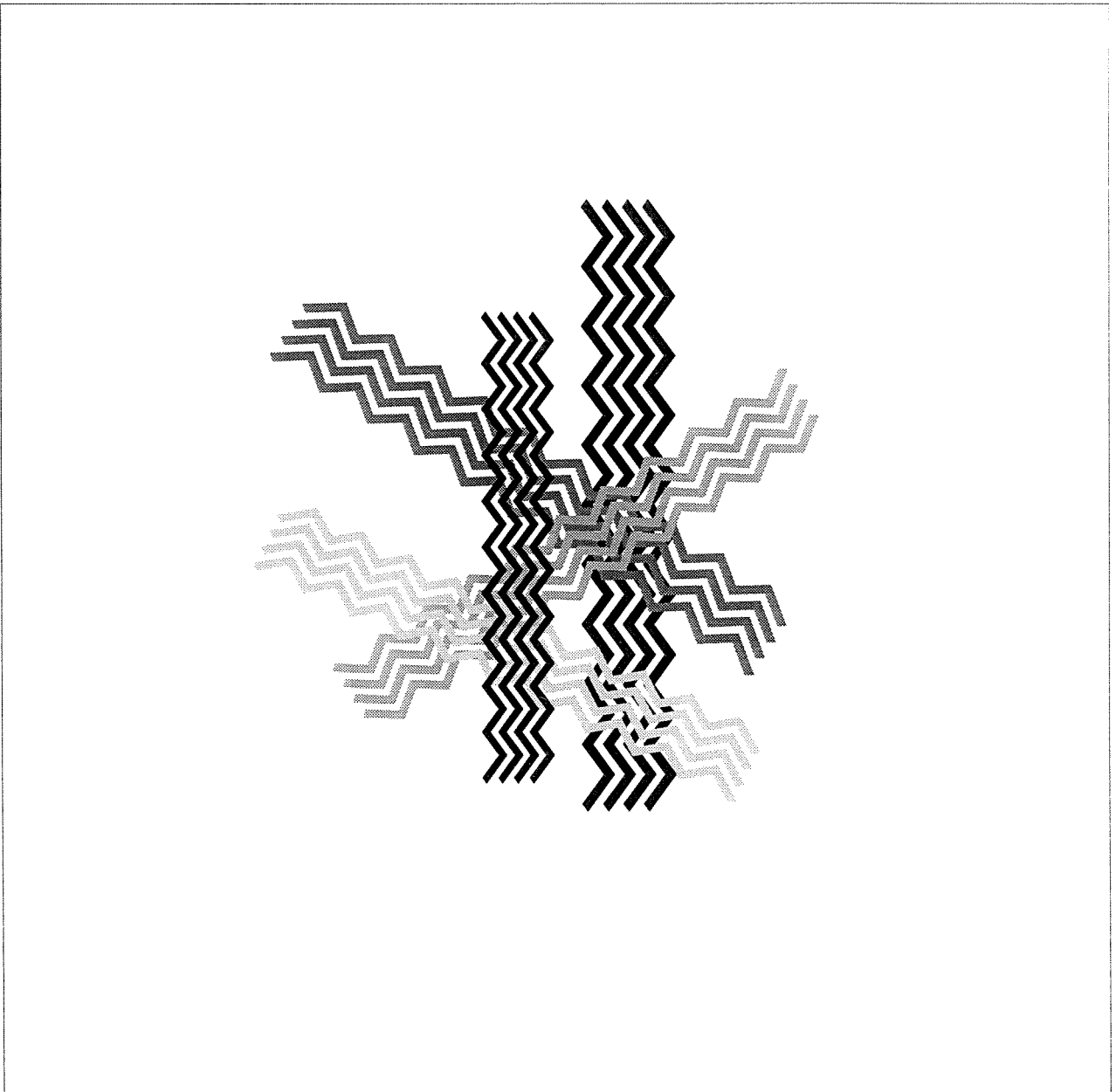


RAPPORT LNR 3399-96

**T**oksisitetstest av  
slitebaner fra bildekk



# NIVA - RAPPORT

Norsk institutt for vannforskning  NIVA

Prosjektnr.: O-95215	Undernr.:
Løpenr.: 3399-96.	Begr. distrib.:

Hovedkontor	Sørlandsavdelingen	Østlandsavdelingen	Vestlandsavdelingen	Akvaplan-NIVA A/S
Postboks 173, Kjelsås 0411 Oslo Telefon (47) 22 18 51 00 Telefax (47) 22 18 52 00	Televeien 1 4890 Grimstad Telefon (47) 37 04 30 33 Telefax (47) 37 04 45 13	Rute 866 2312 Ottestad Telefon (47) 62 57 64 00 Telefax (47) 62 57 66 53	Thormøhlensgt 55 5008 Bergen Telefon (47) 55 32 56 40 Telefax (47) 55 32 88 33	Søndre Tollbugate 3 9000 Tromsø Telefon (47) 77 68 52 80 Telefax (47) 77 68 05 09

Reportens tittel: Toksisitetstest av slitebaner fra bildekk	Dato: 20.12.95	Trykket: NIVA 1995
	Faggruppe: Miljøtoksikologi	
Forfatter(e): Eirik Fjeld Torsten Källqvist	Geografisk område: Sverige	
	Antall sider: 7	Opplag:

Oppdragsgiver: Bokoxen AB, Solbacken 1, 41267 Göteborg, Sverige	Oppdragsg. ref.:
--	------------------

Ekstrakt: Vandig ekstrakt av slitebaner fra ulike kvaliteter bildekk ble toksisitetstestet på ørret, og  $LT_{50}$ -verdier ble beregnet. Ut fra toksisiteten fordelte dekkene seg i to grupper: en gruppe med høy toksisitet ( $LT_{50}$ -verdier: 1,6-1,7 timer) og en gruppe med lav toksisitet ( $LT_{50}$ -verdier: 30-60 timer).

4 emneord, norske

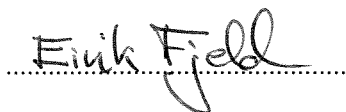
1. toksisitet
2. bildekk
3. ekstrakt
4. ørret

4 emneord, engelske

1. toxicity
2. automobile tire
3. extract
4. brown trout

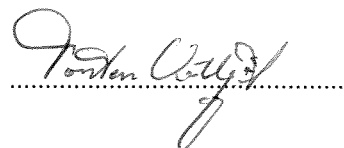
Prosjektleder

Eirik Fjeld



For administrasjonen

Torsten Källqvist



ISBN 82-577-2930-2

## Bakgrunn

Bokoxen AB, henvendte seg i mars 1995 til NIVA for å utført en test av bildekk giftvirkninger på fisk. Det er fra før kjent at bildekk kan avgi vannoppløslige kjemikalier som virker giftig på akvatisk liv (Day et al. 1993, Abernethy 1994).

## Beskrivelser av prøver

Prøvene ble sendt NIVA i september 1995. De besto av grovrevne slitebaner fra ulike typer bildekk. Prøvene var oppbevart i plastposer merket fra 1 - 6.

## Ekstrahering av bildekk

De grovrevne slitebanene som ble mottatt var av noe ujevn størrelse. De ble derfor kuttet opp til biter på omlag 2 - 5 cm lengde. Disse ble skyllet i rent naturlig innsjøvann for å fjerne eventuelle fremmede partikler og finkornede biter av slitebanene. Deretter ble 2300 g av hver prøve plassert 100 l naturlig innsjøvann i rene, overdekkede glassakvarier. Dette er samme forholdet dekkprøver/vann som i forsøket til Abernethy (1994). Vannet ble kraftig og kontinuerlig sirkulert ved innblåsning av luft fra neddykkede glassintere. Det ble også rigget til et akvarium med kun naturlig innsjøvann for bruk til kontrollforsøkene. Vannkvaliteten til det benyttede ekstraksjonsvannet er gitt i tabell 1. Vannet er et typisk norsk overflatevann (Maridalsvann), bløtt, svakt surt og med relativt lite innhold av løste organiske stoffer. Ekstraksjonen foregikk i 14 dager ved  $11,0 \pm 0,4$  °C. Etter ekstraksjonperiodens slutt ble gjennomblåsningen av luft stanset. Tre av prøvene (merket 1, 4 og 5) antok ganske raskt en sterk gulbrun farge under ekstraheringen. De andre prøvene fikk kun et svakt grønnlig preg. Surhetsgraden til de ferdige ekstraktene var kun svakt forskjellige (pH 6,80 – 7,10), og lå nært surhetsgraden i kontrollvannet som hadde stått med luftbobling i 14 dager (pH 6,80). Det var således ikke nødvendig å justere pH i ekstraktene til samme nivå.

**Tabell 1.** Noen kjemiske data for råvannet benyttet i ekstraksjonen (Maridalsvann).

pH		6,7
konduktivitet	mS/m 25 °C	2,94
TOC mg/l		2,33
Ca	mg/l	2,57

## Testorganisme

Som testfisk ble benyttet årsyngel av ørret (*Salmo trutta*) med middelvekt 1,74 g. Fisken var av Normarka-stammen fra OFAs oppdrettsanlegg i Sørkedalen. Fisken ble tatt inn på NIVA 28. september, og fikk en akklimatiseringsperiode på 14 dager før forsøkene startet. Under akklimatiseringsperioden fant vi ingen tegn til unormal atferd eller dødlighet hos fisken.

## Utførelse

Toksisitetstestene ( $LT_{50}$ ) er utført etter en semi-statisk metode (modifisert etter  $LC_{50}$ -metoden gitt i ISO/DIS 7346-2). To dager før start av testene ble testfisken overført til et separat akvarium hvor de ikke ble føret. Testene ble utført i glassakvarier med 14 l vann og 7 fisk i hvert. Dette tilsvarer omlag 0,85 g fisk /l vann, og ligger innenfor den anbefalte grensen på 1 g /l. Akvariene ble forsiktig luftet med luftbobling fra glassintere. Etter hvert døgn ble fisken overført til et nytt akvarium med nytt ekstrakt. pH, temperatur og oksygenmetning ble målt før og etter hvert vannskifte. pH ved start av forsøk lå mellom 6,8 og 7,1, mens pH ved slutt av forsøk lå mellom 6,90 og 7,05. Temperaturen i akvariet lå mellom 11,0 og 11,3 °C, mens oksygenmetningen var tilnærmet lik 100 % i alle testene (se vedlegg). Fisken ble observert med korte intervall det første døgnet, deretter med lengre frekvens, dog minst én gang per døgn. Under hver observasjon ble atferden til fisken registrert og død fisk ble fjernet. Et akvarium med rent innsjøvann ble brukt som kontroll. Dødligheten som funksjon av tiden ble beregnet ved ikke-lineære regresjoner (logistisk funksjon):

$$f = \frac{1}{1 + e^{(\beta - \gamma \cdot tid)}}$$

hvor  $f$  er akkumulert frekvens av død fisk, og  $\beta$  og  $\gamma$  er regresjonsparametere.

På grunnlag av disse regresjonene kan den eksponeringstid som gir 50% dødlighet ( $LT_{50}$ ) beregnes:

$$LT_{50} = \frac{\beta}{\gamma}$$

Standardaviket til  $LT_{50}$ -verdiene kan beregnes som følger:

$$s = \sqrt{\left(\frac{s\beta}{\beta}\right)^2 + \left(\frac{s\gamma}{\gamma}\right)^2} \times LT_{50}$$

hvor  $s\beta$  og  $s\gamma$  er standardaviket til regresjonsparameterene.

## Resultater og diskusjon

Forsøkene viste store forskjeller mellom toksistiten til de ulike dekktypene. Det gulbrune ekstraktet fra dekkene merket 1, 4 og 5 var svært toksisk, og ga  $LT_{50}$  verdier på 1,6–1,7 timer. Testfisken som ble eksponert for dette ekstraktet reagerte momentant med en økt ventileringfrekvens. De andre dekktypene ga et langt mindre toksisk ekstrakt, med  $LT_{50}$  verdier i intervallet 30–60 timer. Dødlighetskurvene er framstilt i figur 1, og resultatene fra regresjonene er gitt i tabell 2. Forsøkene med ekstrakt fra dekk merker 2, 3 og 6 ble gjort to ganger for å gi økt presisjon i estimerte  $LT_{50}$  verdier. Datatabellene fra dødlighets-

forsøkene har vi gitt i et eget vedlegg. I kontrollene var det ingen dødlighet eller noen tegn til unormal atferd hos fisken.

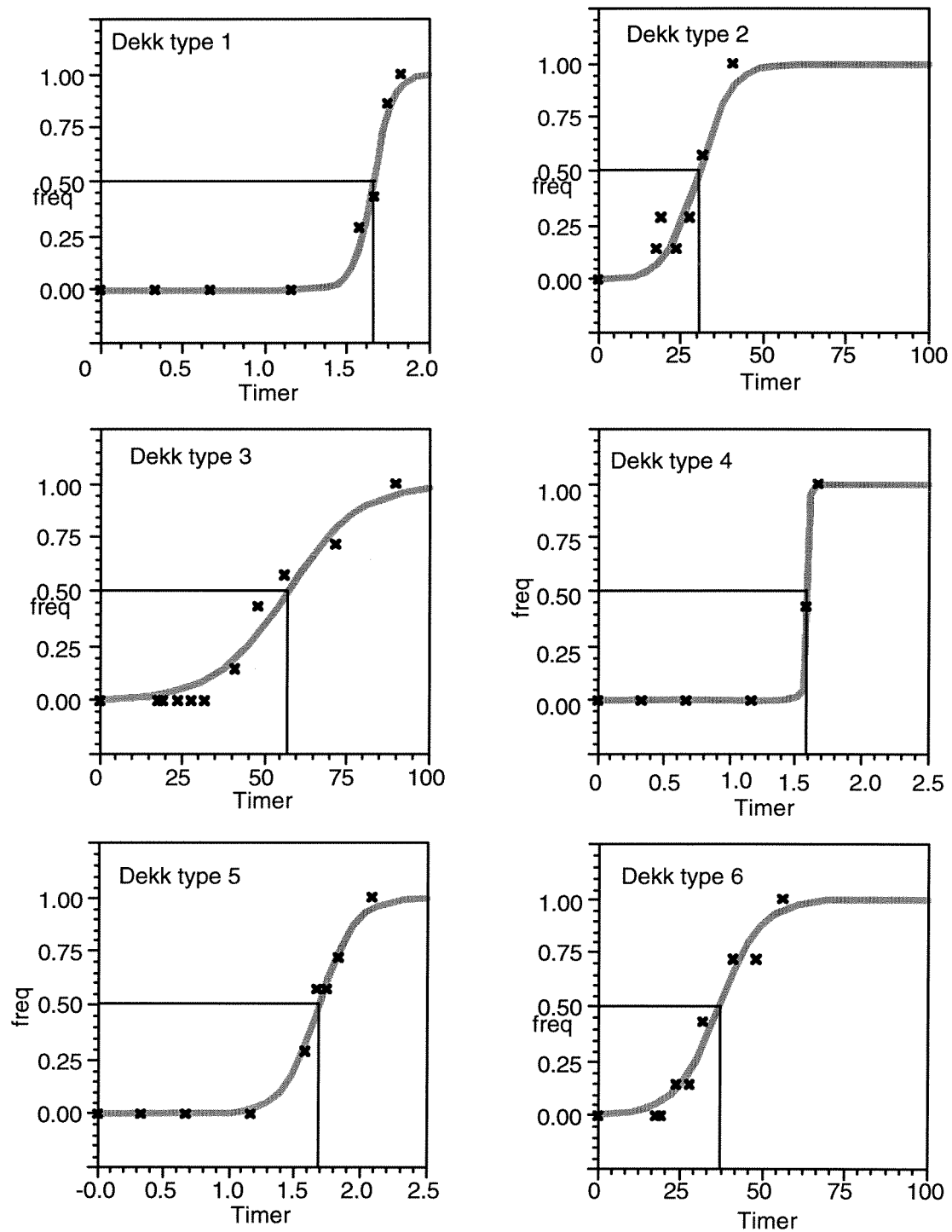
Det ble ikke gjort noen fysiologiske undersøkelser av den døde fisken for om mulig fastslå hvilke toksiske effekter ekstraktene hadde.

Bestemming av  $LT_{50}$  verdier er egnet for sammenligning av toksisitet i en serie prøver, som var hensikten med foreliggende studie. Ved kvantitative vurderinger av toksiske effekter av kjemikalier eller avløpsvann er det vanligere å bruke  $LC_{50}$  som mål for toksisitet.  $LC_{50}$  er den konsentrasjon av som ved et gitt tidspunkt gir 50% toksisitet. I tester med fisk brukes som regel 96 timers eksponeringstid for bestemming av  $LC_{50}$ . For å bestemme  $LC_{50}$ -verdien kreves tester i en konsentrasjonsserie av teststoff eller avløpsvann hvor man etterstrever å dekke konsentrasjonsområdet som gir fra 0 til 100% dødlighet i løpet av 96 timer.

Det er imidlertid ikke mulig å beregne en  $96tLC_{50}$  fra en  $LT$  verdi, fordi tidsforløpet av dødligheten kan variere for ulike toksiske stoffer som bl. a. fremgår av figur 1. Det man kan fastslå er at når en test viser  $LT_{50} = 96$  timer er  $96tLC_{50} =$  den konsentrasjon av teststoffet som testen ble utført ved. Dersom  $LT_{50}$  verdien er lavere enn 96 timer betyr det at den benyttede testkonsentrasjonen var høyere enn  $LC_{50}$ -verdien.. Erfaring fra tester av ulike toksiske kjemikalier som fenoler og tungmetaller viser imidlertid at når konsentrasjonen er ca. 10 ganger høyere enn  $96tLC_{50}$  er  $LT_{50}$  verdien 1-3 timer. For dekkstypene 1, 4 og 5 kan man altså anta at  $96t LC_{50}$  tilsvarer ca. 10 gangers fortykning av vannekstraktene. For dekkstypene 2, 3 og 6 er  $96tLC_{50}$  sannsynligvis ved rundt 2 gangers fortykning av vannekstraktene.

**Tabell 2.** Regresjonsparametere og estimerte  $LT_{50}$ -verdier for toksisitetstestene. Standardavvik er oppgitt.  $LT_{50}$  er oppgitt i timer.

Dekk type	$\beta$	$\gamma$	$LT_{50}$
1	$27,77 \pm 4,49$	$16,70 \pm 2,69$	$1,66 \pm 0,38$
2	$6,23 \pm 1,12$	$0,20 \pm 0,04$	$30,54 \pm 7,94$
3	$5,17 \pm 0,69$	$0,09 \pm 0,01$	$56,9 \pm 10,80$
4	$167,66 \pm 2,64$	$105,71 \pm 1,67$	$1,59 \pm 0,04$
5	$12,24 \pm 1,97$	$7,27 \pm 1,16$	$1,68 \pm 0,38$
6	$5,62 \pm 0,71$	$0,15 \pm 0,02$	$36,53 \pm 6,64$



**Figur 1.** Dødlighetskurver fra toksisitetstestene. Kurvene fra dekk type 1, 4 og 5 er hver basert på en enkeltstående test (med 7 fisk), mens kurvene fra dekk type 2, 3 og 6 er hver basert på to tester (2×7 fisk).

## **Referanser**

Abernethy, S. 1994. The acute lethality to rainbow trout of water contaminated by an automobile tire. Aquatic Toxicology Section, Standard Development Branch. Report PBIS 2989. ISBN 0-7778-2381-0. 13 s.

Day, K.E., Holtze, K.E., Metcalfe-Smith, J.L., Bishop, C.T., and Dutka, B.J. 1993. Toxicity of leachate from automobile tires to aquatic biota. *Chemosphere*. 27: 665–675.

## Vedlegg

**Tabell A.** Akkumulert dødlighet i testene av ekstrakt fra dekk type 1, 4 og 5. Antall fisk: 7. Testfiskens vekt og lengde var  $1,79 \pm 0,09$  g og  $57 \pm 1,1$  mm. Startdato: 14.11.95.

Timer	type 1	type 4	type 5	kontroll
0.00	0	0	0	0
0.33	0	0	0	0
0.67	0	0	0	0
1.17	0	0	0	0
1.58	2	3	2	0
1.67	3	7	4	0
1.75	6	7	4	0
1.83	7	7	5	0
2.08	7	7	7	0

**Tabell B.** Akkumulert dødlighet i testene av ekstrakt fra dekk type 2, 3 og 6. Forsøk 1 av 2. Antall fisk: 7. Testfiskens vekt og lengde var  $1,69 \pm 0,06$  g og  $56 \pm 1,0$ mm. Startdato: 20.10.95.

Timer	2	3	6	kontroll
0.00	0	0	0	0
18.00	1	0	0	0
19.50	2	0	0	0
41.00	7	1	5	0
72.00	7	5	7	0
90.00	7	7	7	0

**Tabell C.** Akkumulert dødlighet i testene av ekstrakt fra dekk type 2, 3 og 6. Forsøk 2 av 2. Antall fisk: 7. Testfiskens vekt og lengde var  $1,75 \pm 0,09$  g og  $57 \pm 0,8$  mm. Startdato: 22.11.95.

Timer	2	3	6	kontroll
0.00	0	0	0	0
24.00	1	0	1	0
28.00	2	0	1	0
32.00	4	0	3	0
48.00	7	3	5	0
56.00	7	4	7	0
72.00	7	5	7	0



**Tabell IV.** pH og oksygenmetning i de ulike testene. Testserie A, B og C refererer henholdsvis til testene i tabell A, B og C.

Testserie	dekk type	pH		oksygen %
		start	slutt	slutt
A	1	7,10	7,05	98
A	4	6,90	6,90	100
A	5	6,95	6,90	100
A	kontroll	6,80	6,90	100
B	2	6,80	6,95	101
B	3	6,90	6,90	101
B	6	6,90	6,90	99
B	kontroll	6,80	6,90	99
C	2	6,80	6,90	100
C	3	6,90	6,90	100
C	6	6,90	6,90	101
C	kontroll	6,80	6,90	100

## **Norsk institutt for vannforskning**

Postboks 173 Kjelsås  
0411 Oslo

Telefon: 22 18 51 00  
Telefax: 22 18 52 00

Ved bestilling av rapporten,  
oppgi løpenummer 3399-96.

ISBN 82-577-2930-2