



## **Förslutrappport 2004-11-01**

### **”PAH i Stockholm – Källor och effekter”**

**finansierat av Miljövårdsfonden, Stockholms läns landsting**

## **Undersökning av källor med avseende på biologisk effekt**

**Tomas Hansson, Gun Åkerman, Ulla Tjärnlund, Kerstin Grunder, Lennart Balk**

### **Sammanfattning**

Denna rapport redogör för resultaten från undersökningar av 9 matriser som antas bidra till spridningen av giftiga ämnen i Stockholms vattenmiljö. Matriserna utgjordes av luftpartiklar, rök, bildäck och asfalt och mätningar gjordes med avseende på biologisk effekt samt koncentration av 24 vanligt förekommande polycykliska aromatiska kolväten (PAH:er). Biologisk effekt mättes som EROD-induktion i levern hos larver av regnbåge, som utvecklats ur ägg injicerade med extrakt från de olika matriserna. Speciellt testades den PAH-innehållande fraktionen (PAC-fraktionen) av total-extraktet. EROD-induktion är ett mått på s.k. AHR-förmedlad toxicitet. Rapporten ger en bakgrund till undersökningen, en grundlig beskrivning av metoden, resultat presenterade i 2 tabeller och 13 figurer samt en diskussion av resultaten. Slutsatsen var att partiklar från stadsluft, rök från vedpanna samt bildäck hade stor förmåga att orsaka EROD-induktion. Luftpartiklar från en bakgrundsstation samt asfalt hade lägre förmåga. Sannolikt uppvisar flera matriser skillnader i PAH-sammansättning.

## Innehållsförteckning

|   |         |
|---|---------|
| 1. Bakgrund   | sid. 3  |
| 2. Introduktion   | sid. 4  |
| 3. Material och metoder   | sid. 5  |
| 3.1 Insamling av matriser   | sid. 5  |
| 3.2 Kemikalier  | sid. 5  |
| 3.3 Extraktion av matriser  | sid. 5  |
| 3.4 Fraktionering för toxicitetstest                              | sid. 5  |
| 3.5 Kemisk analys   | sid. 5  |
| 3.6 Exponering av fisk  | sid. 6  |
| 3.7 Provtagning av fisk   | sid. 6  |
| 3.8 Etoxyresorufin- <i>O</i> -deetylas-aktivitet (EROD-aktivitet) | sid. 7  |
| 4. Resultat   | sid. 8  |
| 5. Diskussion   | sid. 10 |
| 6. Litteratur   | sid. 12 |
| 7. Tabell 1-2   | sid. 13 |
| 8. Figur 1-4  | sid. 16 |
| Appendix: Figur 5-13  | sid. 20 |

## 1. Bakgrund

Nyligen avslutade kemiskt analytiska studier av sedimenterande partiklar från vattenmiljön i centrala Stockholm påvisade förekomst av ett stort antal olika miljögifter samt höga till mycket höga koncentrationer av det stora flertalet av dessa (Ishaq *et al.* 1999, Broman *et al.* 2002). Från de sedimenterande partiklarna extraherades opolära föreningar. Det erhållna total-extraktet delades sedan upp i följande fraktioner med hjälp av vätskekromatografi (HPLC): 1) alifatiska och monocykliska aromatiska föreningar (MAC-fraktion), 2) dicykliska aromatiska föreningar (DAC-fraktion) och 3) polycykliska aromatiska föreningar (PAC-fraktion). Total-extraktet och dess fraktioner undersöktes framför allt med avseende på AHR-förmedlad toxicitet (AHR = Aryl Hydrocarbon Receptor) genom nanoinjektion av extrakten i nybefruktade ägg från regnbåge och mätning av EROD-induktion (EROD = etoxyresorufin-*O*-deetylas) i levern hos larverna ca två månader senare. Dessa undersökningar visade att toxiciteten hos extrakten var extremt kraftig vid flera stationer belägna i centrala Stockholm. För att illustrera detta kan nämnas att extrakt från så lite som 100 mg torrt sediment var tillräckligt toxiskt för att orsaka en tydlig EROD-induktion i 1 kg fiskägg. Vidare visade fraktioneringen att 65-87 % av den AHR-förmedlade toxiciteten kunde härledas till PAC-fraktionen, vilket kunde konstateras trots det faktum att DAC-fraktionen innehöll mycket höga koncentrationer av många kända miljögifter med AHR-förmedlad toxicitet, såsom plana polyklorerade bifenyler (PCB:er), dioxiner och dibensofuraner.

## 2. Introduktion

Syftet med föreliggande undersökning var att analysera troliga källor till den observerade toxiciteten hos de sedimenterande partiklarna ovan, samt att göra en uppskattning av de olika källornas relativa bidrag till förekomsten av ämnen med AHR-förmedlad toxicitet i Stockholms vattenmiljö. Vi använde samma metod som ovan, fast den här gången med främsta fokus på PAC-fraktionen (PAC = Polycyclic Aromatic Compounds).

Följande matriser undersöktes:

- Luftpartiklar från Aspvreten (bakgrundsstation i Södermanland), LRT Luftfilter
- Luftpartiklar från Hornsgatan, PM10-part Högvolymfilter
- Diesellavgaser från Peugeot 406, huvudsakligen MK1-diesel
- Rök från vedeldning i icke miljögodkänd vattenmantlad kombipanna
- Asfalt
- Däck 1: Uniroyal
- Däck 2: Michelin
- Däck 3: Gislaved
- Däck/asfalt-slitage: Gislaved Nordfrost dubbdäck/kvartsit.

Dessa matriser analyserades även kemiskt med avseende på koncentrationen av 24 polycykliska aromatiska kolväten (PAH:er, PAH = Polycyclic Aromatic Hydrocarbon), vilka finns redovisade i Tabell 1.

Strategin var att bestämma sambanden mellan dos och respons i form av EROD-induktion i levern hos de exponerade larverna för respektive matris och att sedan använda de erhållna sambanden för att jämföra de olika matrisernas potentiella giftighet, dels inbördes och dels med deras koncentration av PAH:er. För att säkert täcka in det dosintervall där responsen var tydlig valdes doskoncentrationer i förhållandena 0:1:10:100.

Nästa steg, att uppskatta källornas relativa bidrag till förekomsten av ämnen med AHR-förmedlad toxicitet i vattenmiljön, kräver information om mängder och flöden av de olika matriserna som vi ännu inte har tillgång till. Målsättningen är att dessa uppskattningar ska komma med i den slutgiltiga slutrapporten.

### 3. Material och metoder

#### 3.1 Insamling av matriser

Insamlingen av matriserna har utförts av ITM, AVL MTC, SP:s förbränningslaboratorium och VTI. Detaljerna kring insamlandet finns redovisade på annat håll.

#### 3.2 Kemikalier

Toluen (*p.a.*), n-hexan (LiChrosolv®), kiselgel (60 *puriss*), koppar (*p.a.*, fintkornigt pulver < 63 µm), cyklohexan (*p.a.*), dimetylformamid (DMF, *p.a.*) och natriumklorid (NaCl, *p.a.*) köptes från Merck (Darmstadt, Tyskland). Triolein (T-7140, 99 %), sukros (*p.a.*), etoxyresorufin (E-3763), resorufin (R-3257), Tris-HCl (*p.a.*) och nikotinamadeninukleotidfosfat i reducerad form (NADPH, N0505, 98 %) köptes från Sigma (St. Louis, MO, USA). Agarosgel köptes från Pharmacia (Uppsala, Sweden). Deuteriummärkta PAH-standarder köptes från Cambridge Isotope Laboratories Inc. (Andover, MA, USA). Naturliga PAH-standarder köptes från ett flertal väletablerade kemiföretag.

#### 3.3 Extraktion av matriser

Matriserna extraherades 24 h i toluen med hjälp av en Soxhlet-apparat (Lamparski och Nestricks 1980). Efter extraktion bestämdes matrisernas torrsvikt gravimetriskt. För att få bort lipider och polära föreningar användes en 10 × 100 mm öppen kiselpelare (10 % vatten w/w) med n-hexan som rörlig fas. För att få bort svavel behandlades extrakten med en liten mängd kopparpulver. Efter ultraljudsbad (4 × 15 min) fick extrakten stå över natten (24 h) i rumstemperatur för att få så mycket svavel som möjligt att reagera. En delmängd av det renade extraktet sparades för kemisk analys av PAH:er.

#### 3.4 Fraktionering av extrakt för toxicitetstest

Av återstoden av varje extrakt framställdes exponeringslösningar för toxicitetstestet. Hälften behölls som ”total-extrakt”, medan den andra halvan fraktionerades på en semi-preparativ aminopropylkiselkolonn (NH<sub>2</sub>, µBondapak™, Waters, Milford, MA, USA, 7,8 × 300 mm, 10 µm) med automatiserad vätskekromatografi (HPLC) (Zebühr *et al.* 1993) med en UV-VIS-detektor inställd på 254 nm. Denna väldefinierade teknik, kallad ”straight phase fractionation”, separerar kemiska ämnen företrädesvis med avseende på antalet aromatiska ringar (Colmsjö *et al.* 1987). Retentionstiden för antracen och fenantren (flöde: 3 ml/min) användes för att definiera PAC-fraktionen, som samlades genom back-spolning av kolonnen med ett flöde av 5 ml/min.

#### 3.5 Kemisk analys

Delmängderna av det renade extraktet, som sparats för kemisk analys, spikades med fem deuteriummärkta PAH:er (D12-fenantren, D10-fluoranten, D10-pyren, D12-benso[a]pyren, D12-benso[ghi]pyren) före fraktionering med HPLC på det sätt som beskrivits ovan. PAC-fraktionen renades ytterligare genom extraktion med DMF och eluering genom en 10 × 100 mm öppen kiselpelare (10 % vatten w/w) med n-hexan som rörlig fas (Näf *et al.*

1992). Efter indunstning till liten volym under kvävgas spikades extrakten med  $^{13}\text{C}$ -märkt PCB 153 för beräkning av utbytet av de interna standarderna. Analyserna utfördes med en gaskromatograf (Fisons GC 8000, Thermo Electron Corp, Waltham, MA, USA) utrustad med en PTE<sup>TM</sup>-5-kapillärkolonn (30 m  $\times$  0,25 mm, 0,25  $\mu\text{m}$  filmtjocklek) (Supelco, Bellefonte, PA, USA) kopplad till en masspektrometer (Fisons MD800), som beskrivits på annat håll (Axelman och Broman 1999). PAH-koncentrationerna angavs som ng/g torrt sediment och noggrannheten var i regel 2 gällande siffror.

### 3.6 Exponering av fisk

Rom och mjölke från regnbåge köptes från EM-lax AB i Västervik. För att få ett så homogent material som möjligt användes rom och mjölke från endast ett föräldrapar. Efter att äggen befruktats (artificiellt) och fått svälla i vatten placerades de i bägarformade fördjupningar i 1 % agarosgel gjuten i kvadratiske petriskålar (Falcon, Becton Dickinson Labware, Franklin Lake, NJ, USA) med 36 ägg per petriskål (Åkerman och Balk 1995). Total-extraktet och PAC-fraktionen indunstades till liten volym under en mild ström av kvävgas och löstes i triolein, som är en naturlig beståndsdel i fiskägg. De nyss befruktade äggen exponerades för trioleinlösningarna genom nanoinjektion (Åkerman och Balk 1995, Walker *et al.* 1996). Doserna, som varierade något, framgår av Figur 2 och Appendix. I samtliga fall utom ett användes tre doser i förhållandet 1:10:100 (låg:mellan:hög). Undantaget var matrisen Rök från vedpanna där lågdos inte blev testad pga. doseringsproblem. Två typer av kontroller användes: icke-injicerade kontroller och trioleinkontroller (ägg injicerade med endast triolein). De trioleinbaserade exponeringslösningarna överfördes med hjälp av en vakuumpump till kapillärer av aluminiumsilikat (glas) (Sutter Instrument Co., Novato, CA, USA). Med en diamantslip försågs dessa med en vass elliptisk spets. Injektionerna utfördes under en stereolupp med hjälp av en endimensionell hydraulisk manipulator (Narishige, Tokyo, Japan) i vilken kapillärerna sattes. Efter penetration av korion och vitellinmembranet injicerades exponeringslösningen i gulan med hjälp av tryckluft (kvävgas) från en Pico-injektor (Medical Syst. Corp., Greenvale, NY, USA). Före injektion kalibrerades varje kapillär genom att justera gastrycket och injektionstiden så att den önskade volymen på 1 % (v/v) av äggets volym erhöles. Kontrollgrupper och exponerade grupper hölls i mörker i identiska individuella genomströmningsakvarier (36 individer per system) med en medeltemperatur på  $8,6 \pm 0,4$  °C. Varje akvarium innehöll 2 l kolfilterat kranvatten med ett genomsnittsflöde på 17 ml/min, vilket gav en omsättningstid på 2 h. Kläckning ägde rum 5 veckor efter befruktning och provtagning ägde rum 3 veckor efter kläckning, vilket motsvarar ca 220 dygnsgrader (°C) och konsumtion av ca  $\frac{2}{3}$  av gulesäcken. Larverna avlivades genom att ryggraden kapades.

### 3.7 Provtagning av fisk

Under dissektionen av levern hölls larverna i nollgradig saltlösning under en stereolupp. Levrarna poolades tre och tre och homogeniserades i 300  $\mu\text{l}$  0,25 M sukroslösning med hjälp av en Potter-Elvehjem Teflon-glas-homogenisator (Storl. 18; 0,5 ml). Pistillen fördes ner och upp 6 gånger vid en rotationshastighet på 400 varv per minut. Följaktligen motsvarar 3 larver  $n = 1$  vid den senare beräkningen av EROD-aktiviteten. Homogenaten fördelades omedelbart på kryorör (som förvarades på is) och frystes i flytande kväve. 15 leverar dissekerades från varje exponeringsgrupp och från kontrollerna ( $n = 5$ ).

### 3.8 Etoxyresorufin-*O*-deetylas-aktivitet (EROD-aktivitet)

Aktiviteten för cytokrom P-450 1A (CYP1A) mättes som EROD-aktivitet enligt den metod som beskrivits av Prough *et al.* (1978). Etoxyresorufin och resorufin löstes i 0,1 M Tris-HCl-buffert, pH = 7,8, och hölls i mörker vid 4 °C. En färsk lösning av NADPH i destillerat vatten blandades för varje dag då mätningar utfördes och hölls på is. Ett leverhomogenat i taget tinades snabbt med hjälp av rinnande vatten (30 °C) och en skakmaskin (Vortex®). Det tinade homogenatet sattes på is i väntan på mätningen, som utfördes inom ett par minuter. EROD-aktiviteten i leverhomogenaten mättes vid rumstemperatur (22 °C) med en spektrofluorometer (Jasco FP-777, Japan Spectroscopic Co. Ltd., Tokyo, Japan) i glaskyvetter med en slutvolym på 2 ml. Emissionen vid 583 nm mättes över tid vid en excitationsvåglängd på 530 nm. Bakgrunden mättes före tillsatsen av NADPH, som startade reaktionen. Varje kyvett innehöll 10 till 30 µl leverhomogenat samt etoxyresorufin med en koncentration på 5 µM och NADPH med en koncentration på 50 µM vid reaktionens början. Alla mätningar gjordes som duplikat och det linjära sambandet mellan proteininnehåll och enzymaktivitet testades med jämna mellanrum. En standardkurva konstruerades med hjälp av olika koncentrationer av resorufin i standardbuffert. Den totala EROD-aktiviteten i varje lever-pool (3 leverar) beräknades från emissionsintensiteterna och uttrycktes som pmol/lever/minut. Den genomsnittliga EROD-aktiviteten i varje exponeringsgrupp beräknades och uttrycktes som procent av kontroll.

## 4. Resultat

EROD-aktiviteten vid de olika doserna av respektive matris redovisas i Figur 2, samt i Appendix. I Figur 2 har alla diagram samma skala för jämförelsens skull. Det har dock i några fall fått som konsekvens att punkter hamnat utanför diagrammet, eller att diagramytan inte utnyttjats maximalt. De fullständiga diagrammen, där skalan anpassats till resultaten för respektive matris, redovisas i Appendix. Koncentrationerna för de analyserade polycykliska aromatiska kolvätena i respektive matris redovisas i Tabell 1.

Förmågan hos en matris att inducera EROD-aktivitet kan härledas ur dos/respons-sambandet (D/R-sambandet). Detta samband antas i sammanhang som detta vara S-format, dvs. med en plåtå i början där ökande dos endast ger en liten ökning av responsen, därefter ett parti där ökad dos leder till en tydligt ökad respons, och till sist en ny plåtå med endast liten ökning i respons. En förutsättning för att få detta utseende på D/R-kurvan är dock ofta att man först logarimerar responsvärdena. Se t.ex. Elcombe och Lech (1978). Det S-formade utseendet förklaras för den första delen av D/R-kurvan med att det finns en tröskel under vilken man knappt får någon respons. För den sista delen av kurvan är förklaringen att man uppnår en mättnad, där ökad dos inte längre leder till någon ökad respons. Detta får som konsekvens att förmågan hos en matris att ge en viss respons i första hand bestäms av lutningen på den mittersta delen av kurvan, som ofta är linjär. När man ska bestämma ett D/R-samband gäller det alltså att hitta denna (linjära) del av D/R-kurvan.

Som exempel kan vi studera D/R-sambandet för EROD-aktivitet och B[a]P-dos (Figur 1). I figuren är punkterna sammanbundna med tunna linjer till en kurva som skulle kunna tolkas som den första och mittersta delen på en S-formad D/R-kurva, dvs. först en plåtå och därefter en linjär ökning. Med endast sex punkter är det dock svårt att veta säkert om det är på det sättet. En annan möjlighet är att den första plåtån är minimal och att alla punkterna ligger på den linjära delen av D/R-kurvan. Detta alternativ representeras av den tjocka regressionslinjen. Skillnaden i lutning mellan den tjocka regressionslinjen för alla punkterna och motsvarande regressionslinje för endast de tre högsta doserna är ca 15-20 %, vilket betyder att båda alternativen kan vara en hygglig approximation till lutningen på den linjära delen av D/R-kurvan. (Dock skulle man i det här fallet företrädesvis betrakta de första tre punkterna som en plåtå och bestämma lutningen med hjälp av de tre senare punkterna.)

När vi går till Figur 2 ser resultatet lite annorlunda ut. I de flesta fall finns ingen plåtå i början på kurvan utan istället direkt en ökning och så småningom en mättnad. Det ska understrykas att det är mycket svårt att exakt bestämma D/R-sambandet, då doserna, som i det här fallet, har förhållandena 0:1:10:100 (0:låg:mellan:hög). Det ser dock ut som att högdosen i de flesta fall ligger på den del av D/R-kurvan, där en mättnad har börjat inträda (Figur 2). När det gäller lågdosen är skillnaden mellan dessa värden och noll dos så liten att lågdosen bör ha mindre tyngd än mellandosen. Mot bakgrund av detta valde vi att fastställa D/R-sambanden som den genomsnittliga ökningen mellan noll dos och mellandosen. Ett undantag var matrisen ”Dieselavgaser” där inget D/R-samband kunde fastställas. Denna matris utelämnades därför från vidare analys.

Med hjälp av de erhållna D/R-sambanden beräknades EROD-aktiviteten för 50 mg prov per kg ägg från respektive matris för att kunna jämföra matrisernas induktionsförmåga på viktsbasis (Figur 3, Tabell 2). 50 mg prov per kg ägg ligger i samtliga fall i närheten av mellandosen. I Tabell 2 redovisas också PAC-fraktionens andel av total-extraktets EROD-aktivitet, dels för 50 mg prov per kg ägg (teoretiskt värde) och för mellandosen (faktiskt



värde). Den goda överensstämmelsen mellan teoretiskt och faktiskt värde indikerar att de erhållna D/R-sambanden fungerar tillfredsställande.

Figur 4 jämför EROD-induktionen för 50 mg prov per kg ägg i PAC-fraktionen med koncentrationen av  $\Sigma$ PAH i respektive matris. I Tabell 2 finns också mängden  $\Sigma$ PAH i 50 mg prov uträknad. Det framgår att med avseende på  $\Sigma$ PAH kan matriserna delas in i tre grupper: (1) matriser som består av luftpartiklar och har högst koncentrationer, (2) däck som har medelhöga koncentrationer och (3) asfaltinnehållande matriser som har lägst koncentrationer.

## 5. Diskussion

Dieselavgaser är kända för att orsaka DNA-addukter. Deras förmåga att orsaka EROD-induktion är dock mindre undersökt. Vad vi däremot vet från andra undersökningar är att många petroleumrelaterade matriser innehåller höga koncentrationer mono-, di- och små polyaromatiska föreningar, som har visat sig kunna hämma EROD-aktivitet. Detta skulle kunna förklara varför inget D/R-samband erhöles för denna matris. En bidragande förklaring skulle också kunna vara att doserna var för låga pga. för litet material.

Matrisernas förmåga att inducera EROD-aktivitet illustreras i Figur 3. Det framgår att de mest potenta matriserna var luftpartiklar från Hornsgatan, rök från vedpanna och bildäck. De asfaltinnehållande matriserna visade lägre potens. Luftpartiklar från Aspvreten låg mittemellan, men denna matris var ändå ganska potent för att komma från en bakgrundsstation. Man ska dock hålla i minnet att luftpartiklar är en mycket koncentrerad matris.

När det gäller förhållandet mellan PAC-fraktionens och total-extraktets respektive EROD-aktiviteter, verkar det i huvudsak som om en del inducerande substanser (sannolikt dicykliska aromatiska föreningar, DAC) avlägsnades vid framställningen av PAC-fraktionen. I ett fall, Däck 2: Michelin, högdos (Figur 2, 11), var PAC-fraktionens EROD-induktion till och med högre än EROD-induktionen för totalextraktet. Detta illustrerar det faktum att EROD-aktiviteten för de fraktioner man framställer av total-extraktet inte är strikt additiva, dvs. inte alltid ger total-extraktets EROD-aktivitet vid summering. Detta fenomen är känt från en rad tidigare undersökningar och väcker frågan om det finns antagonistiska effekter mellan ämnen eller grupper av ämnen i total-extraktet. Frågan är dock än så länge dåligt utredd. Det överlag homogena resultatet från denna undersökning (och andra undersökningar) talar emot att den högre EROD-induktionen för PAC-fraktionen än för total-extraktet skulle bero på metodfel.

Den viktiga slutsatsen är dock att en betydande del av AHR-förmedlade toxiciteten kommer från PAC-fraktionen, dvs. polycykliska aromatiska föreningar i någon form. Med olika former avses homo- och heterocykliska föreningar med eller utan substituent. De 24 analyserade PAH:erna är alla homocykliska och saknar substituent (frånsett några metylgrupper). Det är osannolikt att den observerade EROD-aktiviteten i någon betydande utsträckning skulle härröra från dessa PAH:er. Koncentrationen av till exempel B[a]P, ett av de mest potenta av de analyserade ämnena, var i matrisen med luftpartiklar från Hornsgatan ca 45 µg/g. En dos på 50 mg prov per kg ägg av denna matris ger alltså en B[a]P-dos på 0,9 µg per kg ägg. Effekten av denna dos är helt försumbar då inte ens en dos på 40 µg (0,040 mg) B[a]P gav någon signifikant EROD-induktion (Figur 1).

En naturlig följdfråga är varför man analyserar dessa 24 PAH:er om det ändå inte är sannolikt att någon av dem orsakar den observerade EROD-induktionen. Svaret är, åtminstone delvis, att erfarenheten har visat att de analyserade PAH:erna i regel samvarierar med andra, här icke analyserade, PAH:er. Den här undersökningen visar dock att samvariationen kan skilja sig betydligt mellan olika matriser. Av Figur 4 framgår att de matriser som består av luftpartiklar och rök från vedpanna har de högsta koncentrationerna av ΣPAH. En förklaring kan vara att de analyserade PAH:erna är av den typ som bildas vid ofullständig förbränning och därför kan förväntas finnas i luft och rök. Man kan vidare misstänka att de PAH:er som ger upphov till EROD-induktion i de matriser som består av däck och asfalt huvudsakligen har annat ursprung än ofullständig förbränning.

Slutsatsen blir alltså att partiklar från stadsluft, rök från vedpanna samt bildäck är potenta matriser, dock sannolikt med skillnader i PAH-sammansättning. Att luftpartiklar från

bakgrundsstationen Aspvreten är mindre potent är inte underligt. Att luftpartiklar därifrån ändå ger en tydlig EROD-induktion visar att långväga transport av partiklar sker. Att asfalt har lägre potens och lägre PAH-koncentration kan delvis förklaras av att denna matris är tung då den till stor del består av sten. Att matrisen däck/asfalt-slitage är mindre potent än asfalt-matrisen är svårare att förklara, men det skulle kunna bero på viken typ av däck och asfalt som använts, förhållandet mellan däckpartiklar och asfaltpartiklar samt hur nya eller gamla däcken och asfalten varit.

## 6. Litteratur

- Axelmann J, Broman D. 1999. Inventories and fluxes of polychlorinated biphenyls from a contaminated industrial site. *Environmental Toxicology and Chemistry* 18, 1871-1881.
- Broman D, Balk L, Zebühr Y, Warman K. 2002. Miljöövervakning i Stockholms kommun – Saltsjön och Mälaren – KEMI. Slutrapport: provtagningsåren 96/97, 97/98 och 98/99. Rapport till Miljöförvaltningen i Stockholm, 45 sidor.
- Colmsjö AL, Zebühr Y, Östman CE. 1987. Group separation of PCDDs, PCDFs, PACs and aliphatic compounds on an amino bonded stationary phase for HPLC. *Chromatographia* 24, 541-544.
- Elcombe CR, Lech JJ. 1978. Induction of monooxygenation in rainbow trout by polybrominated biphenyls: a comparative study. *Environmental Health Perspectives* 23, 309-314.
- Ishaq R, Åkerman G, Näf C, Balk L, Bandh C, Broman D. 1999. Organic pollutant characterization and toxicity testing of settling particulate matter by nanoinjection in sea trout (*Salmo trutta*) eggs. *Environmental Toxicology and Chemistry* 18, 533-543.
- Lamparski LL, Nestrick TJ. 1980. Determination of tetra-, hexa-, hepta-, and octachlorodibenzo-p-dioxin isomers in particulate samples at parts per trillion levels. *Analytical Chemistry* 52, 2045-2054.
- Näf C, Broman D, Brunström B. 1992. Distribution and metabolism of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) injected into eggs of chicken (*Gallus domesticus*) and common eider duck (*Somateria mollissima*). *Environmental Toxicology and Chemistry* 11, 1653-1660.
- Prough RA, Burke MD, Mayer, RT. 1978. Direct fluorometric methods for measuring mixed-function oxidase activity. In: Fleicher SPL (ed), *Methods in Enzymology* vol LII, part C. Academic Press, New York, sidorna 372-377.
- Walker MK, Zabel EW, Åkerman G, Balk L, Wright P, Tillitt DE. 1996. Chapter Four: Fish egg injection as an alternative exposure route for early life stage toxicity studies. Description of two unique methods. In: Ostrander GK (ed), *Techniques in Aquatic Toxicology*. CRC Press, Boca Raton, FL, USA, sidorna 41-72.
- Zebühr Y, Näf C, Bandh C, Broman D, Ishaq R, Pettersen H. 1993. An automated HPLC separation method with 2 coupled columns for the analysis of PCDD/Fs, PCBs and PACs. *Chemosphere* 27, 1211-1219.
- Åkerman G, Balk, L. 1995. A reliable and improved methodology to expose fish in the early embryonic stage. *Marine Environmental Research* 39, 155-158.

## 7. Tabell 1-2

Tabell 1. Koncentrationer i matriserna av några polycykliska aromatiska kolväten (PAH:er)

| Analyserad PAH        | Enhet | Luft-<br>partiklar<br>Aspvret. | Luft-<br>partiklar<br>Hornsg. | Diesel-<br>avgaser | Ved-<br>panna | Asfalt |
|-----------------------|-------|--------------------------------|-------------------------------|--------------------|---------------|--------|
| Fenantren             | ng/g  | 143363                         | 293144                        | 26798              | 4655          | 277    |
| Antracen              | ng/g  | 6782                           | 41054                         | 4550               | 1904          | 39     |
| 3-metylfenantren      | ng/g  | 12828                          | 33414                         | 5454               | 247           | 245    |
| 1-metylfenantren      | ng/g  | 15942                          | 22889                         | 8039               | 195           | 293    |
| Fluoranten            | ng/g  | 155585                         | 233969                        | 11023              | 3463          | 86     |
| Pyren                 | ng/g  | 97202                          | 182593                        | 8269               | 3106          | 293    |
| 2-fenylnaftalen       | ng/g  | 14185                          | 25294                         | 1551               | 559           | 28     |
| Benso[a]fluoranten    | ng/g  | 29139                          | 62733                         | 911                | 693           | 278    |
| Benso[e]fluoranten    | ng/g  | 27497                          | 76771                         | 631                | 454           | 127    |
| 2-metylpyren          | ng/g  | 8385                           | 29091                         | 448                | 199           | 298    |
| 1-metylpyren          | ng/g  | 6120                           | 24015                         | 623                | 290           | 542    |
| Benso[ghi]fluoranten  | ng/g  | 44002                          | 153077                        | 6045               | 4078          | 17     |
| Cyclopenta[cd]pyren   | ng/g  | 49107                          | 225493                        | 764                | 7015          | 99     |
| Benso[a]antracen      | ng/g  | 56117                          | 332379                        | 1657               | 8706          | 200    |
| Krysen+trifenylen     | ng/g  | 80749                          | 331141                        | 5015               | 9368          | 456    |
| 2,2'-dinaftalen       | ng/g  | 4165                           | 28463                         | 83                 | 876           | 64     |
| Benso[b]fluoranten    | ng/g  | 155169                         | 520639                        | 1652               | 58017         | 461    |
| Benso[j+k]fluoranten  | ng/g  | 57598                          | 176604                        | 508                | 24611         | 83     |
| Benso[e]pyren         | ng/g  | 47972                          | 252377                        | 1458               | 35491         | 887    |
| Benso[a]pyren         | ng/g  | 44986                          | 263655                        | 320                | 79554         | 317    |
| Perylen               | ng/g  | 5248                           | 44798                         | 52                 | 14182         | 838    |
| Indeno[1,2,3-cd]pyren | ng/g  | 53318                          | 245615                        | 582                | 264398        | 80     |
| Benso[ghi]perylene    | ng/g  | 46081                          | 366848                        | 1983               | 367707        | 369    |
| Koronen               | ng/g  | 24960                          | 185732                        | 256                | 191864        | 120    |
| ΣPAH                  | ng/g  | 1186500                        | 4151788                       | 88673              | 1081634       | 6496   |
| ΣPAH                  | µg/g  | 1186,5                         | 4151,8                        | 88,7               | 1081,6        | 6,5    |

Tabell 1 (forts.). Koncentrationer i matriserna av några polycykliska aromatiska kolväten (PAH:er)

| Analyserad PAH        | Enhet | Däck 1:<br>Uniroyal | Däck 2:<br>Michelin | Däck 3:<br>Gislaved | Däck/<br>asfalt-<br>slitage |
|-----------------------|-------|---------------------|---------------------|---------------------|-----------------------------|
| Fenantren             | ng/g  | 5819                | 8595                | 19768               | 366                         |
| Antracen              | ng/g  | 716                 | 1708                | 1945                | 28                          |
| 3-metylfenantren      | ng/g  | 1379                | 1343                | 2236                | 78                          |
| 1-metylfenantren      | ng/g  | 2411                | 2058                | 4456                | 115                         |
| Fluoranten            | ng/g  | 4641                | 15808               | 28066               | 534                         |
| Pyren                 | ng/g  | 19135               | 71284               | 101533              | 1103                        |
| 2-fenylnaftalen       | ng/g  | 128                 | 328                 | 589                 | 24                          |
| Benso[a]fluoranten    | ng/g  | 3235                | 1596                | 10909               | 40                          |
| Benso[e]fluoranten    | ng/g  | 1442                | 700                 | 6176                | 31                          |
| 2-metylpyren          | ng/g  | 1025                | 1805                | 1938                | 57                          |
| 1-metylpyren          | ng/g  | 2016                | 2869                | 4651                | 101                         |
| Benso[ghi]fluoranten  | ng/g  | 4139                | 16950               | 17332               | 152                         |
| Cyclopenta[cd]pyren   | ng/g  | 9599                | 29656               | 42632               | 127                         |
| Benso[a]antracen      | ng/g  | 1061                | 1597                | 7000                | 38                          |
| Krysen+trifenylen     | ng/g  | 4809                | 3535                | 20714               | 113                         |
| 2,2'-dinaftalen       | ng/g  | 423                 | 330                 | 2429                | 14                          |
| Benso[b]fluoranten    | ng/g  | 3364                | 3605                | 12024               | 370                         |
| Benso[j+k]fluoranten  | ng/g  | 532                 | 571                 | 1967                | 105                         |
| Benso[e]pyren         | ng/g  | 10102               | 10007               | 21725               | 531                         |
| Benso[a]pyren         | ng/g  | 3040                | 6131                | 9541                | 377                         |
| Perylen               | ng/g  | 2075                | 1207                | 5842                | 232                         |
| Indeno[1,2,3-cd]pyren | ng/g  | 1144                | 6113                | 6360                | 977                         |
| Benso[ghi]perylen     | ng/g  | 13294               | 39853               | 39058               | 1740                        |
| Koronen               | ng/g  | 9749                | 44390               | 21575               | 947                         |
| ΣPAH                  | ng/g  | 105276              | 272038              | 390466              | 8200                        |
| ΣPAH                  | µg/g  | 105,3               | 272,0               | 390,5               | 8,2                         |

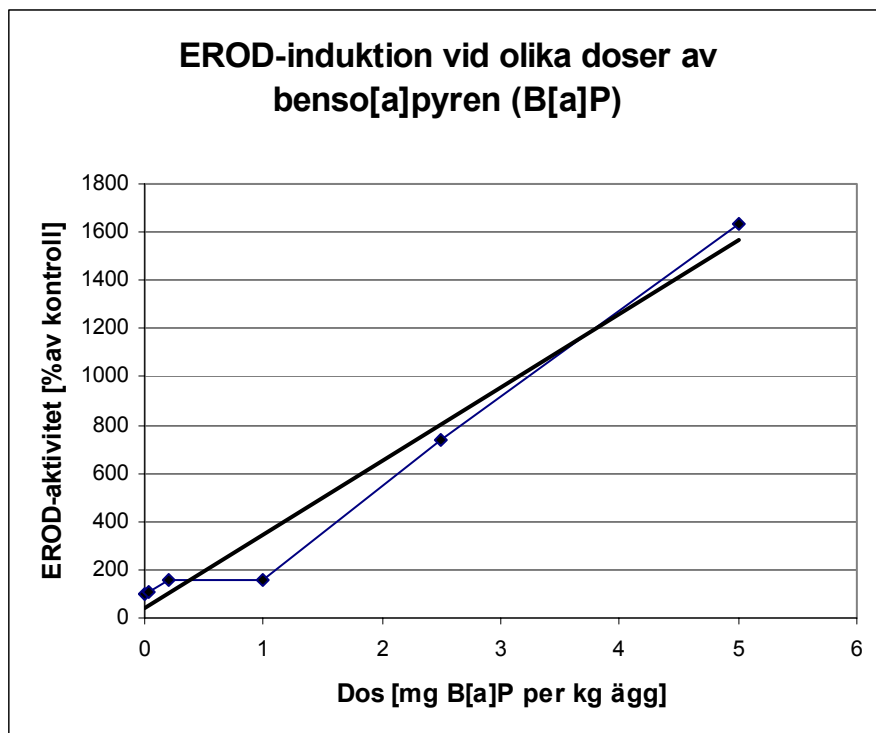
Tabell 2. Mängd ΣPAH och EROD-aktivitet i PAC-fraktionen

| Matris                   | Mängd ΣPAH<br>i 50 mg prov<br>[μg] | EROD-aktivitet<br>för 50 mg prov<br>per kg ägg<br>[% av kontroll] | Teoretisk<br>PAC/Tot <sup>1</sup><br>[%] | Faktisk<br>PAC/Tot <sup>2</sup><br>[%] |
|--------------------------|------------------------------------|---|--|--|
| Luftpartiklar Aspvreten  | 59,32                              | 383,9   | 70,9                                     | 77,5                                   |
| Luftpartiklar Hornsgatan | 207,59                             | 880,9   | 84,1                                     | 87,9                                   |
| Vedpanna                 | 54,08                              | 847,3   | 93,7                                     | 96,8                                   |
| Asfalt                   | 0,32                               | 336,1   | 79,3                                     | 78,6                                   |
| Däck 1: Uniroyal         | 5,26                               | 834,2   | 68,7                                     | 72,7                                   |
| Däck 2: Michelin         | 13,60                              | 1031,9  | 92,6                                     | 93,6                                   |
| Däck 3: Gislaved         | 19,52                              | 578,0   | 72,0                                     | 76,5                                   |
| Däck/asfalt-slitage      | 0,41                               | 147,7   | 96,3                                     | 96,7                                   |

<sup>1</sup> PAC-fraktionens andel av total-extraktets EROD-aktivitet för 50 mg prov.

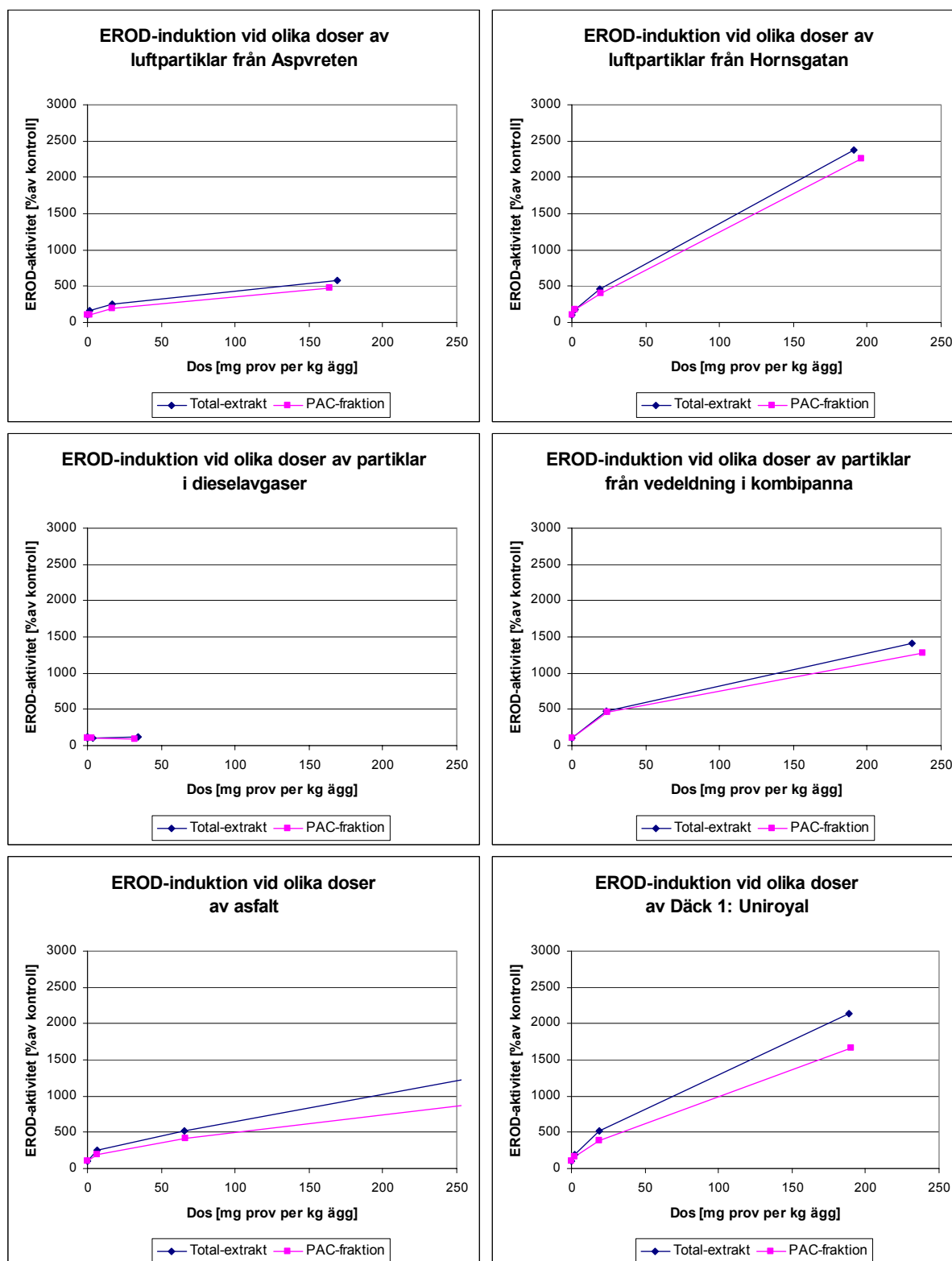
<sup>2</sup> PAC-fraktionens andel av total-extraktets EROD-aktivitet för mellandosen.

## 8. Figur 1-4

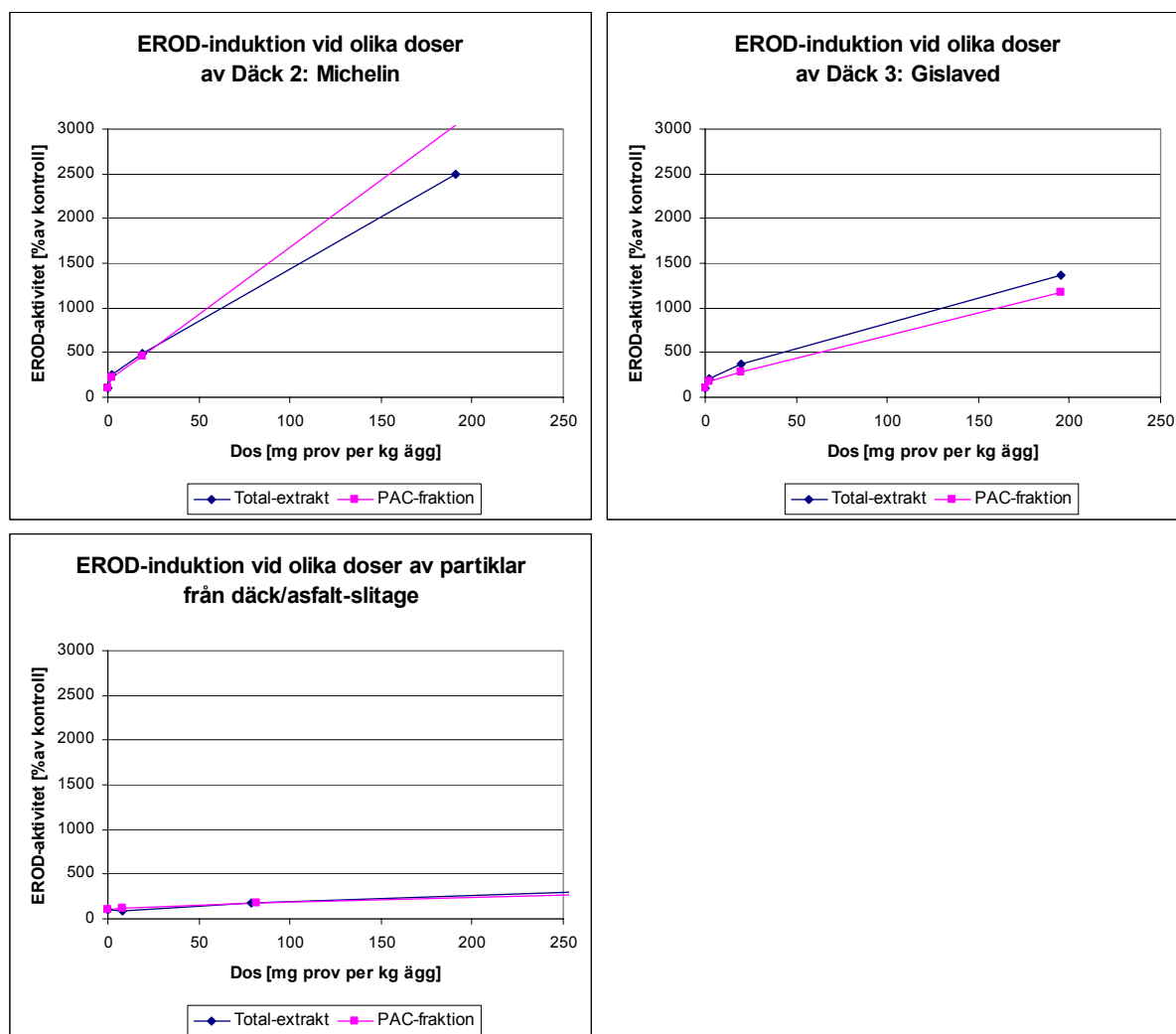


Figur 1. Samband mellan dos av benso[a]pyren (B[a]P) och respons i form av EROD-aktivitet i lever hos larver av regnbåge.

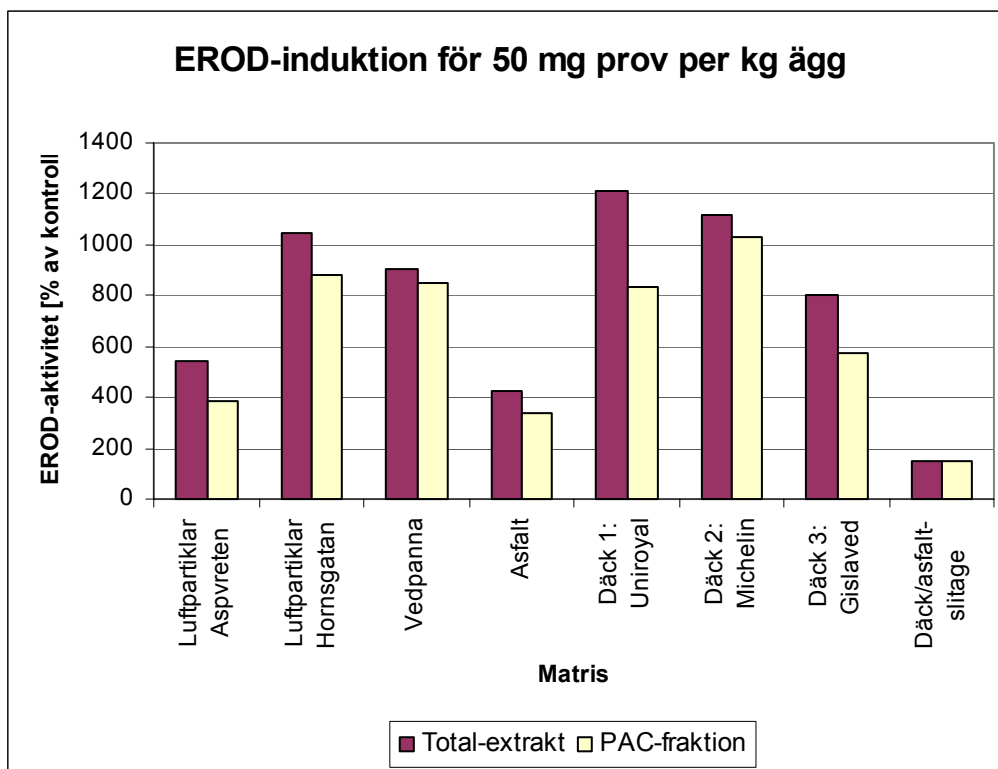




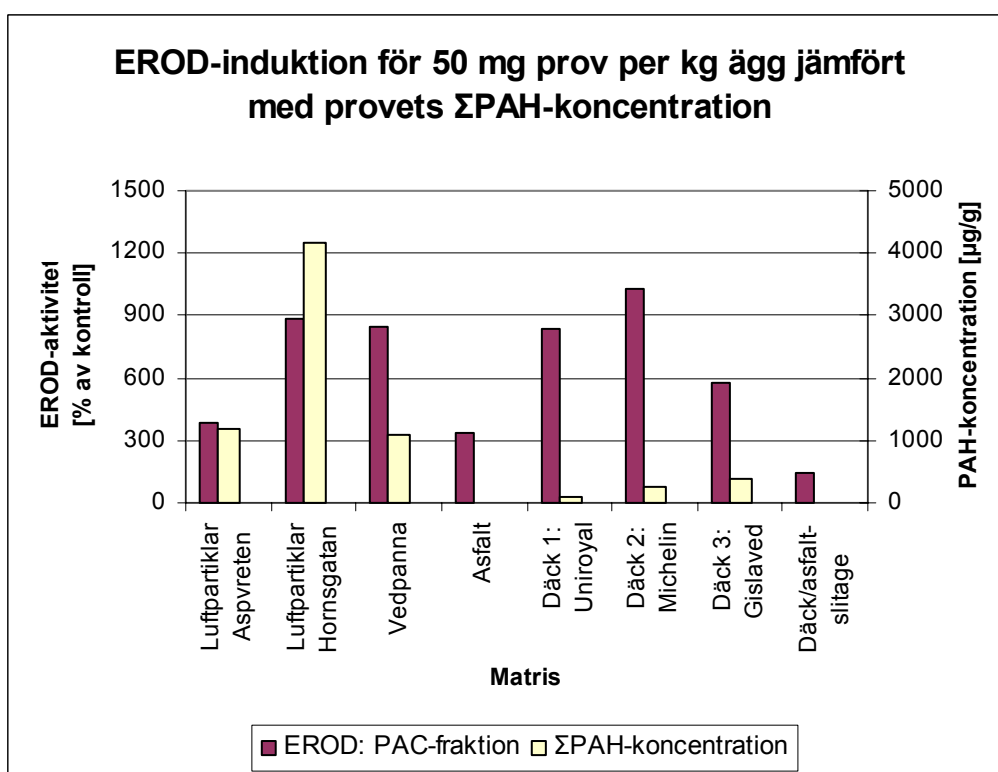
Figur 2. Samband mellan dos av sedimentextrakt och respons i form av EROD-aktivitet. Dosvärdet anger hur många mg prov per kg ägg som extraktet var baserat på.



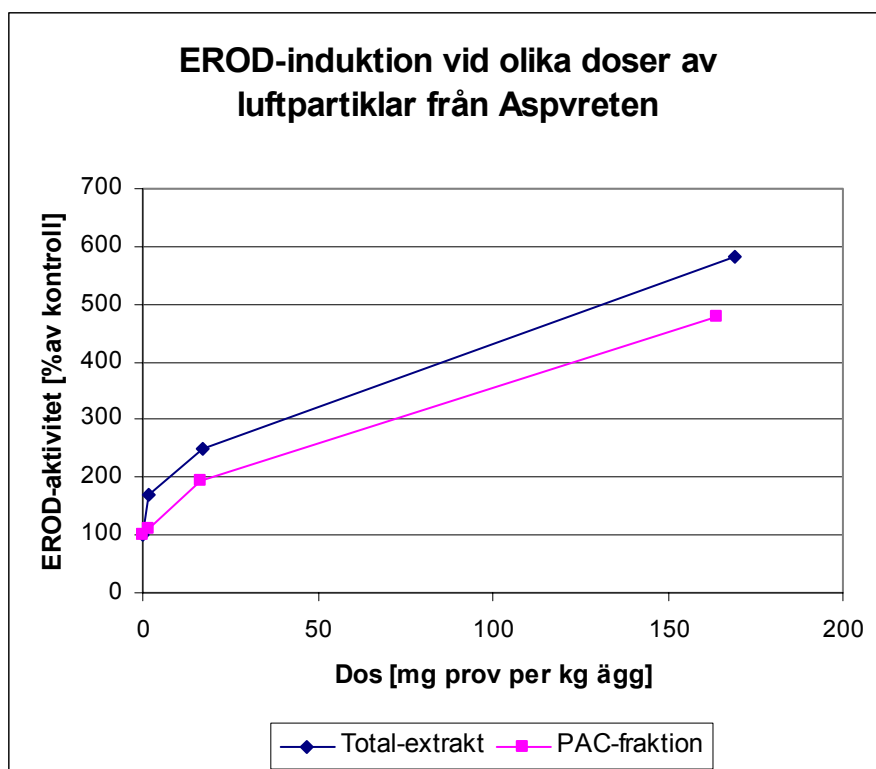
Figur 2 (forts). Samband mellan dos av sedimentextrakt och respons i form av EROD-aktivitet. Dosvärdet anger hur många mg prov per kg ägg som extraktet var baserat på.



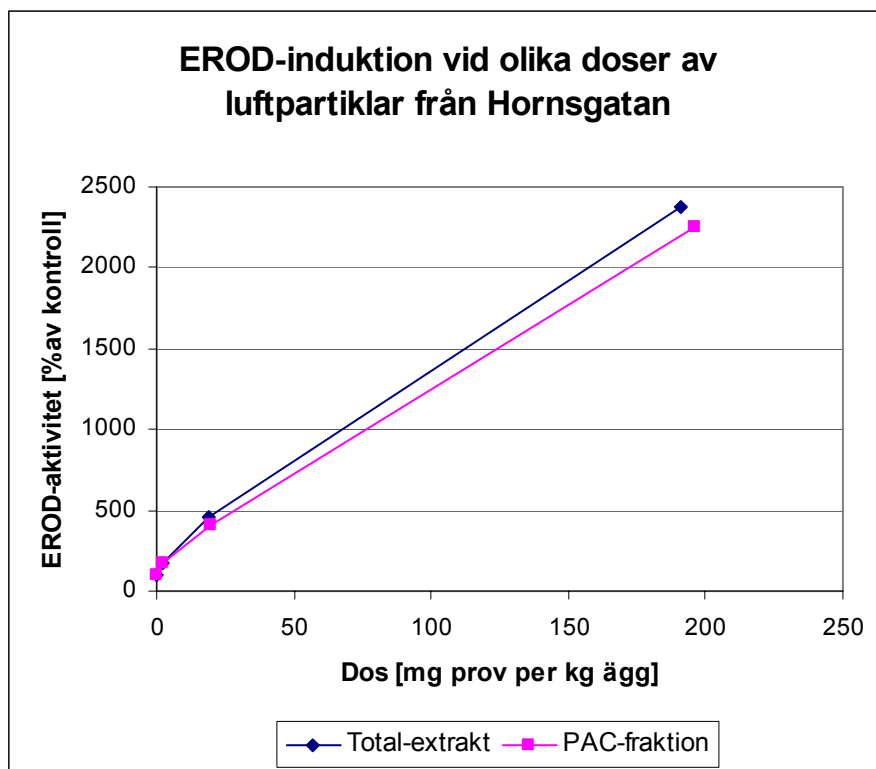
Figur 3. EROD-induktion för 50 mg prov per kg ägg.



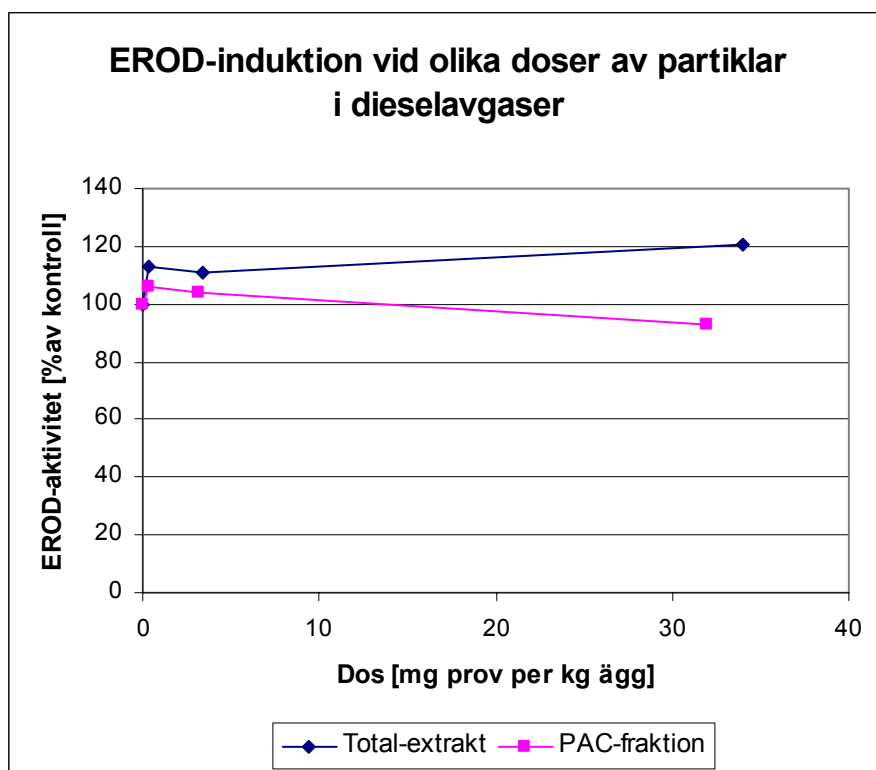
Figur 4. EROD-induktion för 50 mg prov per kg ägg jämfört med provets  $\Sigma$ PAH-koncentration

**Appendix: Figur 5-13**

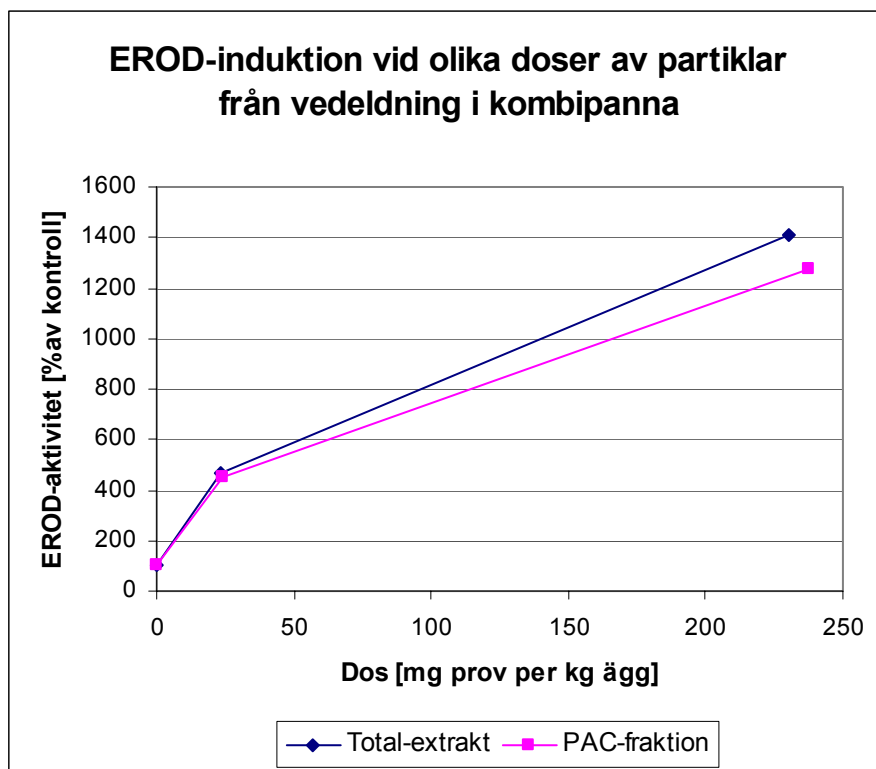
Figur 5. EROD-induktion vid olika doser av luftpartiklar från Aspvreten. Dosvärdet anger hur många mg prov per kg ägg som extraktet var baserat på.



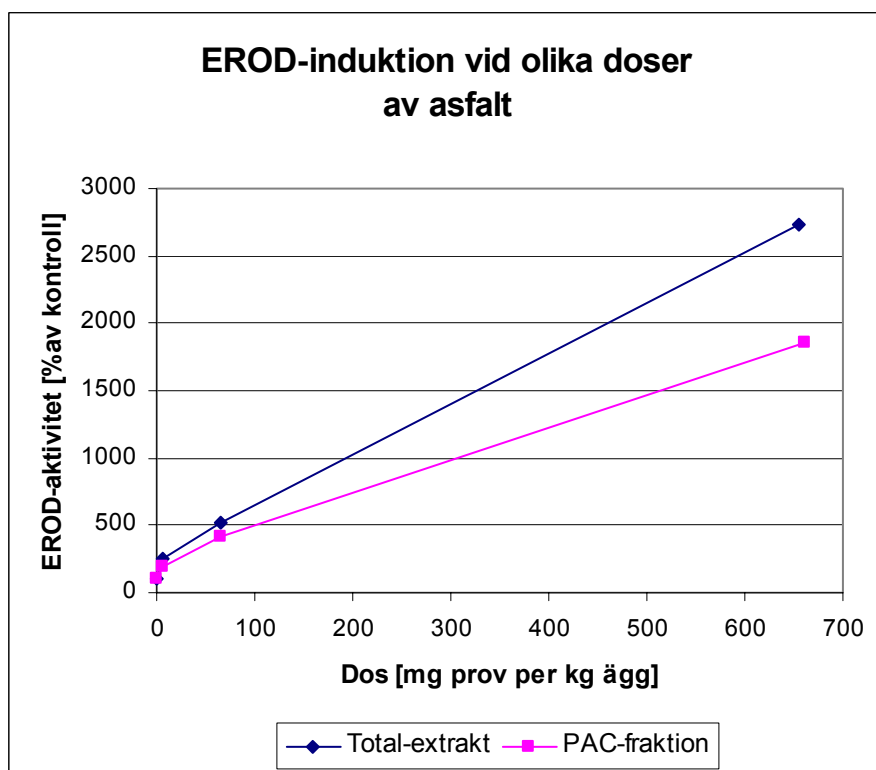
Figur 6. EROD-induktion vid olika doser av luftpartiklar från Hornsgatan. Dosvärdet anger hur många mg prov per kg ägg som extraktet var baserat på.



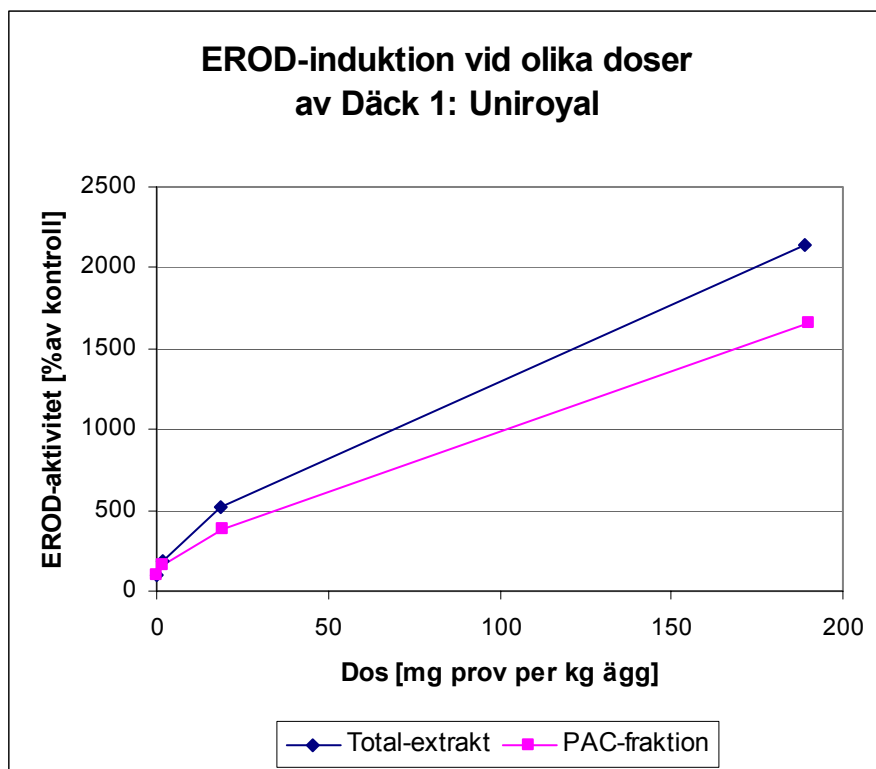
Figur 7. EROD-induktion vid olika doser av partiklar i dieselavgaser. Dosvärdet anger hur många mg prov per kg ägg som extraktet var baserat på.



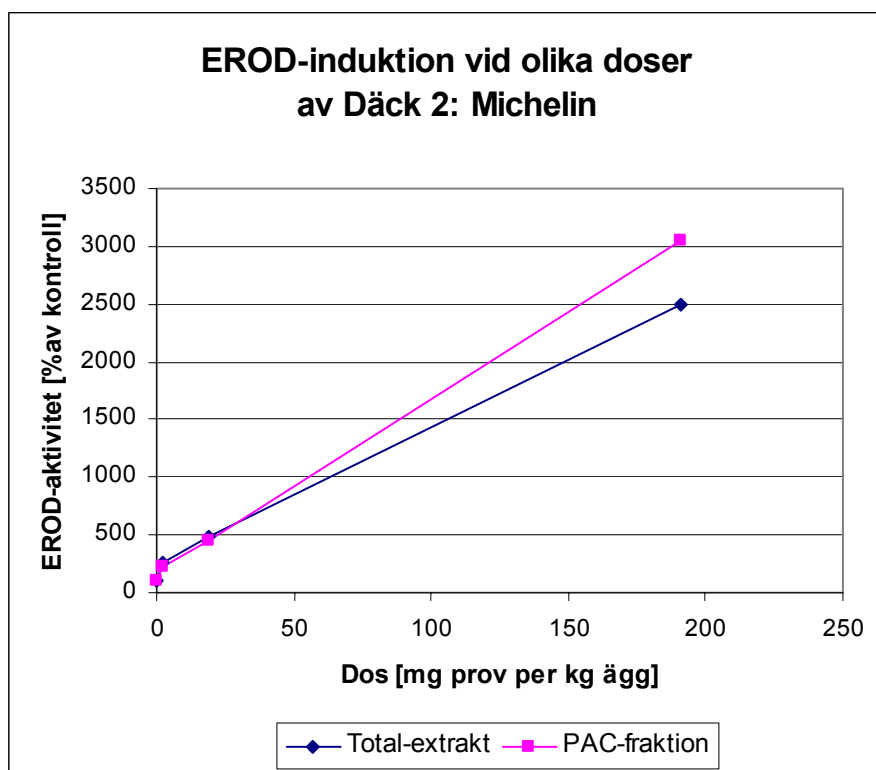
Figur 8. EROD-induktion vid olika doser av partiklar från vedeldning i kombipanna. Dosvärdet anger hur många mg prov per kg ägg som extraktet var baserat på.



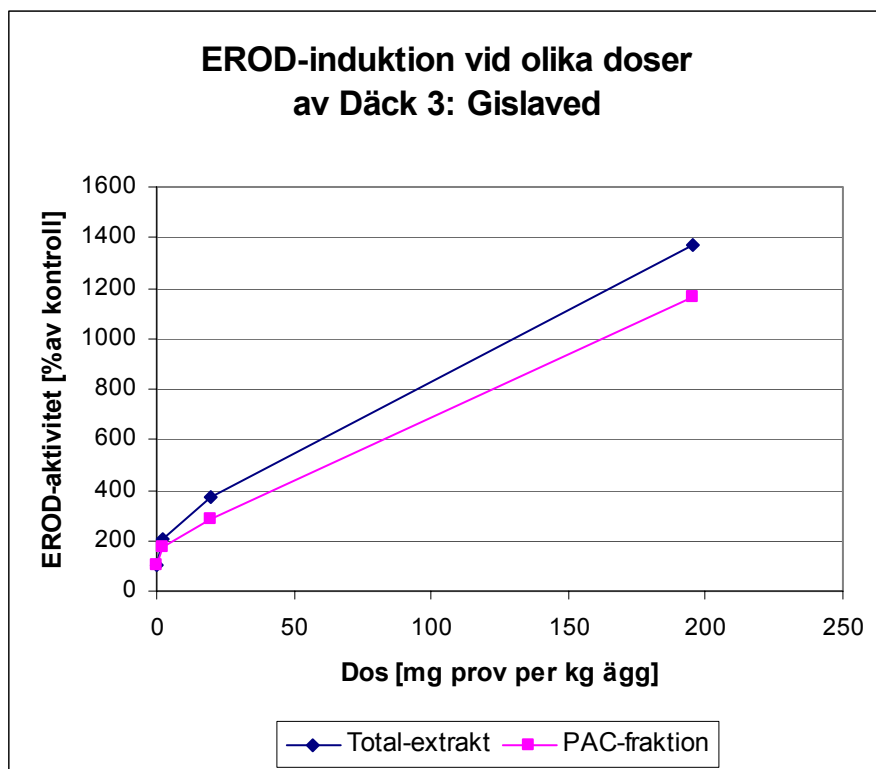
Figur 9. EROD-induktion vid olika doser av asfalt. Dosvärdet anger hur många mg prov per kg ägg som extraktet var baserat på.



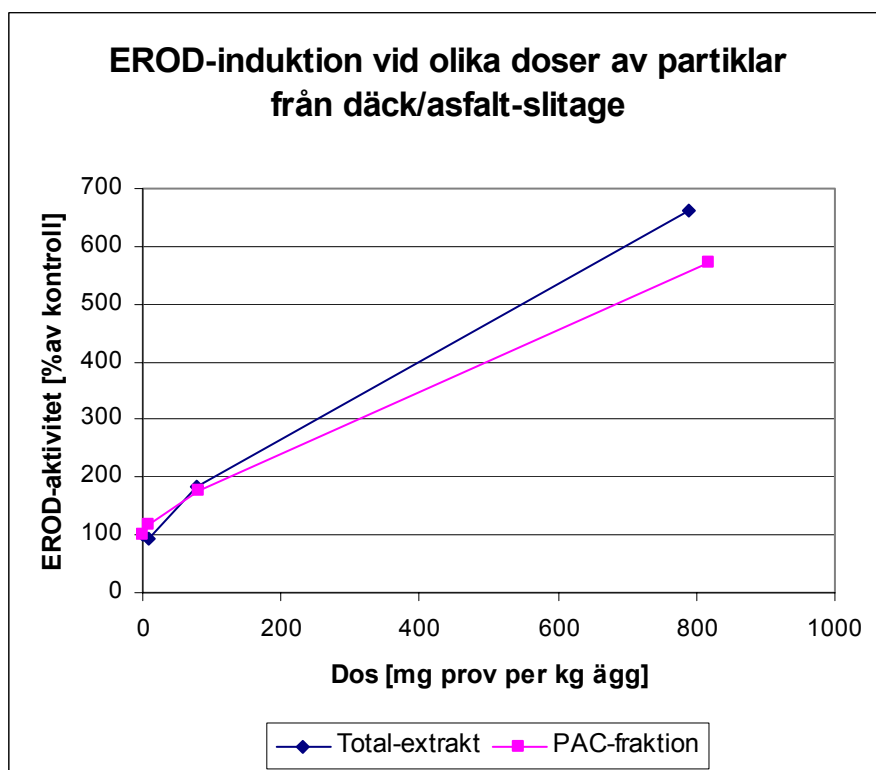
Figur 10. EROD-induktion vid olika doser av Däck 1: Uniroyal. Dosvärdet anger hur många mg prov per kg ägg som extraktet var baserat på.



Figur 11. EROD-induktion vid olika doser av Däck 2: Michelin. Dosvärdet anger hur många mg prov per kg ägg som extraktet var baserat på.



Figur 12. EROD-induktion vid olika doser av Däck 3: Gislaved. Dosvärdet anger hur många mg prov per kg ägg som extraktet var baserat på.



Figur 13. EROD-induktion vid olika doser av partiklar från däck/asfalt-slitage. Dosvärdet anger hur många mg prov per kg ägg som extraktet var baserat på.