



# rappport

IVL Svenska Miljöinstitutet AB

## Miljöfarlighetsbedömning av hydraulolja för arbets- och skogsmaskiner



Tomas Viktor, Lena Wennberg, Marianne Malmberg och Ann-Sofie Allard, IVL

B 1267

Stockholm, augusti 1997

# IVL

## Institutet för Vatten- och Luftvårdsforskning Swedish Environmental Research Institute

<b>Organisation/Organization</b> Institutet för Vatten- och Luftvårdsforskning	<b>RAPPORTSAMMANFATTNING</b> <b>Report Summary</b>
<b>Adress/Address</b> Box 21060 100 31 STOCKHOLM	<b>Projekttitel/Project title</b> Miljöfarlighetsbedömning av hydrauloljor för arbets- och skogsmaskiner
<b>Telefonnr/Telephone</b> 08-729 15 00	<b>Anslagsgivare för projektet/Project sponsor</b> Preem's miljöstiftelse och Naturvårdsverket
<b>Rapportförfattare, author</b> Tomas Viktor, Lena Wennberg, Marianne Malmberg, Ann-Sofie Allard	
<b>Rapportens titel och undertitel/Title and subtitle of the report</b> Miljöfarlighetsbedömning av hydrauloljor för arbets- och skogsmaskiner	
<b>Sammanfattning/Summary</b> <p>Två syntetiskt baserade hydrauloljor som används allmänt i olika hydraulsystem har undersökts med ett batteri ekotoxikologiska tester representerande både akvatisk och terrester miljö. De båda produkternas effekter har undersökts både som jungfrulig olja samt efter ca 1000 driftstimmar i hydraulsystem. De akvatiska testerna är valda efter ekologisk relevans och återspeglar de olika trofinivåerna :alg, bakterie, kräftdjur och fisk. Effekter på markekosystemet har undersökts med gräs- och masktester. De båda undersökta oljorna var svårslösliga i vatten och mätnadsvärdet var ca 100 mg/l analyserat som organiskt kol. I de terrestra systemen uppstod även problem med skiktning trots att oljan applicerades direkt till jord eller agar. En av de testade hydrauloljorna som innehöll en fenolisk antioxidant gav akuta toxiska effekter i alla undersökta akvatiska testsystemen med moderata effekter på fisk, kräftdjur och bakterier, samt kraftig effekt på tillväxten hos alg.</p> <p>I de terrestra systemen gav samma produkt moderata effekter på gräs och kraftiga effekter på mask. Den andra undersökta oljan gav betydligt mindre effekter i fyra av sex testsystem. Inga akuta toxiska effekter kunde registreras vid tester med fisk och kräftdjur. Effekterna på alger och mask var mindre medan likvärdiga effekter erhöles för bakterier och gräs. Det visade sig vid statistisk utvärdering att en skillnad i effektnivå kunde fastställas för de båda produkterna.</p> <p>Däremot gav jungfrulig eller förbrukad olja jämförbara effekter. De akuta effekter i naturen som skulle kunna uppstå vid t.ex. ett slangbrott förvärras inte om det är gammal olja i systemen. Effekter på subletal kan uppstå om den gamla hydrauloljan innehåller t.ex. tungmetaller från kopplingar. En helhetsbedömning av de akuta effekterna som kan uppstå vid spill eller haverier visar att en av oljorna ger låga till intermediära effekter och den andra intermediära till kraftiga toxiska effekter enligt OECD's bedömningsnormer.</p>	
<b>Nyckelord samt ev. anknytning till geografiskt område, näringsgren eller vattendrag/Keywords</b> Hydraulolja, Fisk, Kräftdjur, Alg, Bakterie, Mask, Gräs, Ekotoxikologi	
<b>Bibliografiska uppgifter/Bibliographic data</b> <b>IVL Rapport B 1267</b>	
<b>Beställningsadress för rapporten/Ordering address</b> IVL, Publikationsservice, Box 21060, S-100 31 Stockholm, Sweden	

## Förord

Denna studie initierades av IVL och finansierades av Preems miljöstiftelse och av Naturvårdsverket. Projektet genomfördes under hösten och vintern 1996/97. Projektledare var Lena Wennberg, Tomas Viktor var ansvarig för fisktester, kräftdjurstester, samt fungerade som kontaktperson mot Preem. Marianne Malmberg och Ann-Sofie Allard var ansvariga för växttester och masktester. Algtesterna utfördes av Anette Petterson på Thalassa AB.

## Innehållsförteckning

Förord .....	1
1. Bakgrund .....	3
2. Utförande.....	4
2.1 Behandling av hydraulolja .....	5
2.2 Sebrafisk.....	5
2.3 Artemia.....	5
2.4 Microtox.....	6
2.5 Alger.....	6
2.6 Enchytraeider .....	6
2.7 Rajgräs .....	7
3. Resultat.....	7
3.1 Analyser av mättnadsvärden .....	7
3.2 Sebrafisk.....	8
3.3 Artemia.....	8
3.4 Microtox.....	9
3.5 Alger.....	9
3.6 Enchytraeider .....	10
3.7 Rajgräs .....	12
4. Toxic unit jämförelse samt ranking för de undersökta testsystemen .....	14
5. Diskussion.....	15
6. Referenser .....	16

## Bilagor

1. Testprotokoll från Microtox testerna
2. Fullständiga testprotokoll från algtester
3. Protokoll från testerna med rajgräs
4. Protokoll från testerna med mask
5. Varuinformationsblad för de undersökta produkterna

## 1. Bakgrund

Användandet av effektiva smörjoljor är en nödvändighet inom den moderna industrin. Inom området pågår en intensiv forskning och utveckling, vilket bl a har lett till utvecklingen av vegetabiliska alternativ till de mineralbaserade basoljorna (Mang, 1993; Dresel and Heckler, 1994). En av fördelarna med de vegetabiliska oljorna är att de i jämförelse med mineraloljor bedöms skonsammare för miljön. Detta beror bl a på att de generellt sett är mer lättnedbrytbara än mineraloljor.

För att oljorna ska kunna ha en god smörjande verkan vid höga temperaturer, rörlighet vid låga temperaturer, korrosionsskyddande förmåga m.m., krävs tillsatser av additiv (Hewstone, 1994). Några egenskaper som gäller för de flesta additiv är att de är svårnedbrytbara och har höga fördelningskoefficienter i oktanol/vatten (Ahlbom och Duus, 1992). Det sistnämnda innebär att ämnena har en benägenhet att upplagras i fett, vilket i kombination med toxisk verkan gör att de kan orsaka skador på organismer under en längre tidsperiod.

Utvecklingen av t.ex. hydrauloljor är en flexibel process som sker i samklang med utvecklingen av hydraulsystem i last- och lyftmaskiner. Vidare eftersträvas oljor med så liten miljöeffekt som möjligt.

Det finns viss ekotoxikologisk kunskap om basoljor och additiv, var för sig. Merparten av forskningsinsatserna vad gäller den ekotoxikologiska forskningen har dock rört oraffinerad mineraloljas effekter i kustområden. Vidare har även olika raffinerade mineraloljors effekt studerats samt i viss mån de färdiga formulerade produkterna. Däremot är motsvarande kunskap om de vegetabiliska och syntetiskt framställda produkterna, t.ex. vegetabiliskt baserade hydrauloljorna, mer begränsad. Det är också viktigt att studera de ekotoxikologiska egenskaperna hos förbrukade oljor, eftersom dessa kan förändras i takt med att de utnyttjas för sin avsedda funktion. Detta beror bl a på en hög temperatur och på att oljan tar upp föroreningar, t ex metaller, från kopplingar (Naturvårdsverket, 1993). Bedömningen av oljorna försvåras av att ämnena som ingår i oljorna kan verka synergistisk eller antagonistiskt, vilket är av avgörande betydelse för deras miljöpåverkande egenskaper.

Projektet var från början tänkt att studera effekt av motoroljor, men efter samråd med Preem ändrades syftet med projektet till att studera effekter av hydrauloljor för skogs- och arbetsmaskiner. Denna förändring motiverades av att relativt mycket är känt om motoroljor, dessutom sker ett kontrollerat omhändertagande av den använda produkten. Skogsbruket använder årligen ca 15 000 m<sup>3</sup> hydraulolja, var av ca 12 000 m<sup>3</sup> hamnar i naturen på grund av driftsstörningar och dess miljöstörande effekt i terrester och akvatisk miljö är dåligt undersökt.

Sammanfattningsvis finns det alltså en mängd faktorer som kan påverka hydrauloljornas miljöpåverkande egenskaper, och det är viktigt att vid en bedömning av de ekotoxikologiska egenskaperna ta hänsyn till alla ingående komponenter i hydrauloljan, både före men framför allt efter dess tekniska användning.

## 2. Utförande

Två hydrauloljor med olika tillsatser och mängder av additiv valdes ut. Urvalet gjordes i samråd med Preem, vilka också var producent av de valda oljorna. En syntetisk hydraulolja, med bas av fettsyraestrar, **Synstar 46** fortsättningsvis betecknad **S** och en hydraulolja med en annan fettsyraester som bas **Biohydraul ES** betecknad **B**, valdes. Enligt tillverkaren Preem representerar **Synstar 46** den äldre typen av syntetiska hydrauloljor och **Biohydraul ES** den senast utvecklade produkten. För vidare information om oljornas formulering se varuinformationsbladen i bilaga 5. Prov togs också på de två oljorna efter teknisk användning motsvarande ca 1000 drifttimmar i respektive maskin, här betecknade **Sa** för använd **Synstar 46** respektive **Ba** för använd **Biohydraul ES**. Detta gör totalt fyra olika oljeprov.

Hydrauloljorna studerades med avseende på effekter på vatten- och marklevande organismer enligt nedanstående specifikation. De vattenlevande organismerna utgjordes av fisk, kräftdjur, grönalger och Microtox™ (luminiserande bakterier), medan de i svenska jordar allmänt förekommande enchytraeiderna (ca 1 cm långa vita daggmaskar) och växten engelskt rajgräs representerar marklevande organismer. I tabell 1 sammanfattas de olika testorganismerna och studerad påverkan.

Tabell 1. Testsystem samt responsparameter som använts för miljöfarlighetsbedömningen av de båda produkterna.

Organism	Studerad påverkan	Referens
Sebrafisk <i>Brachydanio rerio</i>	Tidiga yngelstadier	ASTM 1988
Kräftdjuret <i>Artemia franciscana</i>	Dödlighet/orörlighet	Persoone 1981
Algen <i>Raphidocelis subcapitata</i>	Tillväxt	ISO 8692
MICROTOX™	Ljusintensitet	Beckmans manual
Daggmaskarten <i>Enchytraeus crypticus</i>	Reproduktion	Westheide; Bethke-Beilfuss, 1991
Engelskt rajgräs <i>Lolium perenne</i>	Rottillväxt	Nyffeler et al, 1982

## 2.1 Behandling av hydraulolja

Oljeprovorna skakades med vatten under ett dygn, varefter vattenfasen togs ut med jämna intervall (1, 2, 3, 6, och 24 h), fick vila i ca 5 min innan provet analyserades med avseende på totalt organiskt kol, TOC (SS 028199). Detta gjordes för att identifiera efter vilken tid oljemättnad i vattenfasen uppträder. För båda de testade oljorna S och B inträffade maximal mättnad efter tre timmar (ca 100 mg TOC/l). Den mättade/ övermättade vattenfasen efter 24 h skakning användes sedan för att testas på de vattenlevande organismerna. Däremot studerades påverkan av hela oljan på enchytraeiderna och gräset.

## 2.2 Sebrafisk

Försöken utfördes med 2-3 dygn gamla sebrafiskyngel som utvecklats i rent sötvatten under embryo/ungelstadiet. Exponeringen av försöksfiskarna-10 yngel per koncentration utfördes i Petriskålar av glas innehållande 50 mL testlösning. Det av standarden föreskrivna spädmediet användes. Spädvattnet bereds genom att salter tillsätts vatten som behandlats med omvänd osmos och jonbyte, vilket ger ett sötvatten med endast spår av metaller och organisk substans. Testlösningarna bereddades genom blandning av oljemättad vattenfas till lämpliga koncentrationer. Försöken startade med 3 olika koncentrationer och kompletterades med fler om effekter uppstod. Försöken pågick under minst 7 dygn och lösningarna förnyades dagligen genom att ynglen överflyttades med flampolerade pastuerpipetter till nyberedda lösningar. Samtidigt med bytet kontrollerades antalet döda eller på annat sätt påverkade yngel. Jungfruliga oljor testades i intervallet 100-50 % (vol/vol) inblandning av oljemättad vattenfas. Förbrukade oljor undersöktes i koncentrationsintervallet 100-12% (vol/vol) inblandning av oljemättad vattenfas. pH och syremättnad kontrollerades dagligen för att verifiera att inte dessa faktorer påverkat ynglens överlevnad. Mortalitetsdata behandlades sedan med Probit analys enligt Litchfield och Wilcoxon vilket ger LC<sub>50</sub> värden (median letal koncentrationer) efter olika exponeringstider. Denna försöksmetodik harmoniserar med US EPA metod ”7 days toxicity test with fishlarvae” ASTM 1988.

## 2.3 Artemia

Försöken utfördes med 24 timmar gamla *Artemia franciscana* ungar sk. nauplier som kläckts i rent havsvatten, 2,8 % salthalt. 20 nauplier per koncentration, exponerades i Petriskålar innehållande 5,0 mL testlösning i intervallet 100-17 % (vol/vol) av mättad vattenfas både för jungfrulig och förbrukad olja. Rent syntetiskt havsvatten användes som spädmedium i testerna. Djuren exponerades under 24 timmar därefter skedde av-

läsning av antalet orörliga/döda kräftdjur. Mortalitetsdata behandlades sedan med Probit analys vilket ger LC 50 värden med 95% konfidensintervall. Metoden harmoniserar med ARC testen (Artemia reference center) (Persoone 1981).

## 2.4 Microtox

Försöken har utförts i enlighet med Beckman Instruments manual. Standardmetoden bygger på att luminicerande bakterier exponeras för fyra olika koncentrationer prov under 5 och 15 minuter. Ur dos-effektsambandet beräknas med statistiska metoder  $EC_{50}$  och  $EC_{20}$  värden dvs de koncentrationer som motsvarar 50 respektive 20 procents minskning av ljusutstrålningen från bakterierna. Medel- och högtoxiska prover testas i duplikat med ljusintensitetsmätningar före provtillsats, efter 5 minuter och slutligen efter 15 minuter (normalmetoden). Lågttoxiska prover testas i triplikat enligt en särskild procedur. För mer detaljer i utförandet och utvärderingen hänvisas till rapporten "Microtox-test en metodbeskrivning", (Svensson 1993).

## 2.5 Alger

Tester med grönalgen (*Raphidocelis subcapitata* tidigare *Selenastrum capricornutum*) utfördes av AB Thallassa. Försöken har utförts i enlighet med ISO 8692. Metoden bygger på att tillväxten hos en encellig alg studeras i ett definierat näringsmedium samt vid tillsats av i detta fall fem olika koncentrationer oljemättad vattenfas. Förändringar i algekulturens normala tillväxt registreras och EC värden motsvarande 50% och 20% effekt beräknas. Problem uppstod att utvärdera data från algtesterna med oljemättad vattenfas därför kompletterades försöken med en försöksomgång med invägning av en exakt mängd olja direkt i testmediet. En fullständig metodbeskrivning presenteras i bilaga 2.

## 2.6 Enchytraeider

Vid ett preliminärt försök att testa akut toxicitet hos oljorna framkom att endast en begränsad oljevolymer blandade sig med agarmediet varför ingen bestämd effektkoncentration kunde fastställas. För att om möjligt undersöka oljornas toxiska effekter användes istället en reproduktionstest där toxisk påverkan oftast kan avläsas vid lägre testkoncentrationer. Försöken utfördes enligt en metod, beskriven av Westheide och Bethke-Beilfuss 1991, med smärre modifikationer. Som testorganism används *Enchytraeus crypticus* och testen avser maskens reproduktion, mätt i antal lagda äggkokonger och hur många av dessa som helt tömtes efter det att äggen kläckts och de unga maskarna krupit ut. Försöken utfördes vid 20°C på agarplattor i vilka önskad mängd olja gjutits in. 10 nyligen köns mogna maskar exponerades per koncentration. Var femte dag flyttades



maskarna över till nya agarplattor, dödlighet och eventuell annan påverkan noterades och de lagda kokongerna på den gamla plattan räknades. Detta upprepades tre gånger. Plattorna med kokongerna sparades i minst 10 dagar efter det att maskarna avlägsnats, varefter antalet helt tömda kokonger noterades. Samtliga oljor undersöktes vid koncentrationerna 1; 10; 50 ml olja per kg agarmedium.

## 2.7 Rajgräs

Försöken avser rottillväxt och utfördes enligt en testmetod, använd bl a av Nyffeler et al 1982, med smärre modifikationer. Grunda, rektangulära plastskålar användes som testkärl. Artificiell jord, beredd enligt OECD:s guidelines (1993), lades i ett tunt lager i skålen och indränktes med avjoniserat vatten. Testkoncentrationerna bereddades genom att önskad mängd olja sattes direkt till skålen, vars innehåll noga blandades och fördelades jämnt över botten. Fem förgrodda frön av engelskt rajgräs (*Lolium perenne*) placerades på ett filterpapper som lagts över jordlagret. Skålen täcktes med ett tättslutande lock och inkuberades vid 25°C i mörker i tre dygn, varefter rotlängden uppmättes. Samtliga oljor undersöktes vid koncentrationerna 3; 16; 33; 65; 98; 163 och 325 ml olja per kg jord (torrvikt).

## 3. Resultat

### 3.1 Analyser av mätnadsvärden

Resultaten från TOC analyserna av mättad vattenfas efter olika skaktider redovisas i tabell 2. Vattenfaser kunde endast analyseras på oanvända produkter med standard TOC analys. De använda oljorna gav mättade vattenfaser där topparna vid mätning på kromatogram inte tog slut och inget värde registrerades. För att få en uppfattning av mätnadsvärdet för använda oljor analyserades torrsubstansen enligt SS028112-3 i vattenfasen efter 24 timmars skakning. Detta utfördes dels på använd och ny produkt och jämfördes sedan med mätnadsvärdena mätt som TOC för ny produkt.

Tabell 2. TOC och torrsubstansanalyser på mättade vattenfaser

Hydraulolja	TOC mg/l				TS GF/A mg/l
	1 timma	2 timmar	3 timmar	24 timmar	24 timmar
B	23	53	95	93	520
Ba	-	-	-	102*	570
S	27	54	120	130	630
Sa	-	-	-	122*	590

\*Beräknad TOC halt baserat på torrsubstansanalyserna

### 3.2 Sebrafisk

Resultaten från testerna med yngel av sebrafisk redovisas i tabell 3 där LC<sub>50</sub> värden efter olika exponeringstider anges. LC<sub>50</sub> värdet dvs. den koncentration som dödar hälften av försöksdjuren anges i vol/vol % oljemättad vattenfas med 95% konfidensintervall som spridningsmått för varje enskilt resultat. Vidare anges LC<sub>0</sub> värdet vilket är den högsta koncentrationen där ingen dödlighet registrerades.

Tabell 3. LC<sub>50</sub> och LC<sub>0</sub> värden för Sebrafiskyngel vid test av hydrauloljorna S och B. Resultaten är uttryckta i vol/vol % mättad vattenfas efter exponering.

Hydraulolja	4 dygn	7 dygn	LC <sub>0</sub> 7 dygn
B	>100	>100	>100
Ba	>100	>100	>100
S	70 (71-69)	50 (51-49)	35
Sa	>70	53 (75-38)	25

Testerna med sebrafiskyngel visade att mättad/övermättad vattenfas av oljan betecknad B inte ger någon mortalitet eller andra visuella effekter vare sig som ny eller använd. De komponenter som förekommer i oljan (bas samt additiv) löser sig inte i vatten i tillräcklig mängd för att ge effekter på fisk. Hydrauloljan betecknad S ger letala effekter vid en koncentration som motsvarar 50% inblandning av mättad vattenfas både före och efter användning. LC<sub>0</sub> dvs 0% dödlighet registrerades vid 35 resp 25% inblandning av mättad vattenfas före resp efter användning. Detta motsvarar 45 resp 32 mg TOC/l men eftersom baserna är likvärdigt formulerade för de båda oljorna härrör effekten av S med stor sannolikhet från den fenoliska antioxidanten som är ett av additiven. Det bör också tilläggas att de yngel som dog under testerna låg på botten av testkärnen, de fastnade m.a.o. ej i den oljefilm som bildades på ytan.

### 3.3 Artemia

Resultaten från testerna med *Artemia* nauplier redovisas i tabell 4 som LC<sub>50</sub> med 95% konfidensintervall och LC<sub>0</sub> värden efter 24 timmars exponering.

Tabell 4. LC<sub>50</sub> och LC<sub>0</sub> värden uttryckta i vol/vol% mättad vattenfas för *Artemia* nauplier vid test av hydrauloljorna B och S.

Hydraulolja	LC <sub>50</sub> 24 timmar	LC <sub>0</sub> 24 timmar
B	>100	>100
Ba	>100	≥100*
S	50 (58-42)	17**
Sa	84 (107-66)	25

\* 5% dödlighet registrerades i 100% mättad vattenlösning vilket var detsamma som i en kontrollgrupp.

\*\* Grafiskt framtaget värde

Testerna med *Artemia* nauplier visade i likhet med fisktesterna att mättad/övermättad vattenfas av hydraulolja B inte ger några akut letala effekter på försöksdjuren. Resultaten från testerna med olja S och Sa visade att hälften av försöksdjuren dör vid 50 resp 84% inblandning av oljemättad vattenfas. Inga akut letala effekter uppstod i koncentrationer under 17 resp. 25% inblandning av mättad vatten fas. Som i fallet med fisk påverkar troligtvis inte basen kräftdjuren och de registrerade effekter kan med stor sannolikhet tillskrivas den fenoliska antioxidanten. De kräftdjur som dog under testerna låg på botten och var inte fysiskt fångade i den oljefilm som bildades på ytan.

### 3.4 Microtox

Resultaten från testerna med MICROTOX™ redovisas i tabell 5 där EC<sub>50</sub> värden efter 5 resp 15 minuters exponering redovisas. I bilaga 1 redovisas det fullständiga testprotokollet.

Tabell 5. EC<sub>50</sub> värden uttryckta i vol/vol% oljemättad vattenlösning för MICROTOX™ vid test av hydraulolja S och B

Hydraulolja	EC <sub>50</sub> 5 min	EC <sub>50</sub> 15 min
B	28 (26-30)	26 (24-28)
Ba	34 (32-36)	32 (30-34)
S	33 (32-39)	35 (29-49)
Sa	29 (27-31)	24 (22-25)

Microtox testerna gav i stort likvärdiga resultat för de båda oljorna samt en liten skillnad på ny och använd produkt. Resultaten indikerar att basen ger effekt i detta testsystem medan ingen extra påverkan från additiven kan registreras.

### 3.5 Alger

Resultaten från algtesterna sammanfattas i tabell 6, där beräknade EC<sub>50</sub> värden efter 72 timmars exponering redovisas. En komplett resultat redovisning finns i bilaga 2.

Tabell 6. Resultat från tester med algen *Raphidocelis subcapitata* uttryckta i vol/vol% oljemättad vattenfas.

Hydraulolja	EC <sub>50</sub>
B	20
Ba	6,7
S	~1,0
Sa	1,0

Testerna med alger gav svårtolkade resultat beroende den fysiska effekten som oljorna utövar på algerna. Vilken effekt, toxisk eller fysiskt infångade celler i oljedroppar, som i praktiken stör tillväxten hos algekulturer, går inte att särskilja. Hydraulolja S gav dock den kraftigaste effekten även i detta testsystem.

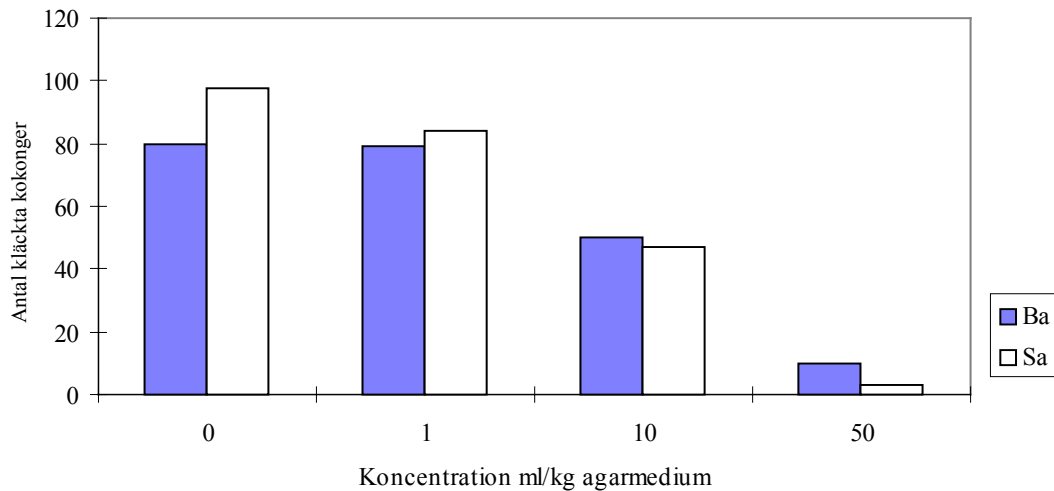
### 3.6 Enchytraeider

Nedanstående tabell visar resultaten från testerna med *Enchytraeus crypticus* efter fyra veckors exponering för hydrauloljorna före och efter teknisk användning. I bilaga 3 redovisas det fullständiga testprotokollet.

Tabell 7. EC<sub>50</sub> värden, uttryckta ml olja per kg agarmedium, för kokongantal och kläckningsfrekvens hos *Enchytraeus crypticus* vid test av hydrauloljorna S och B.

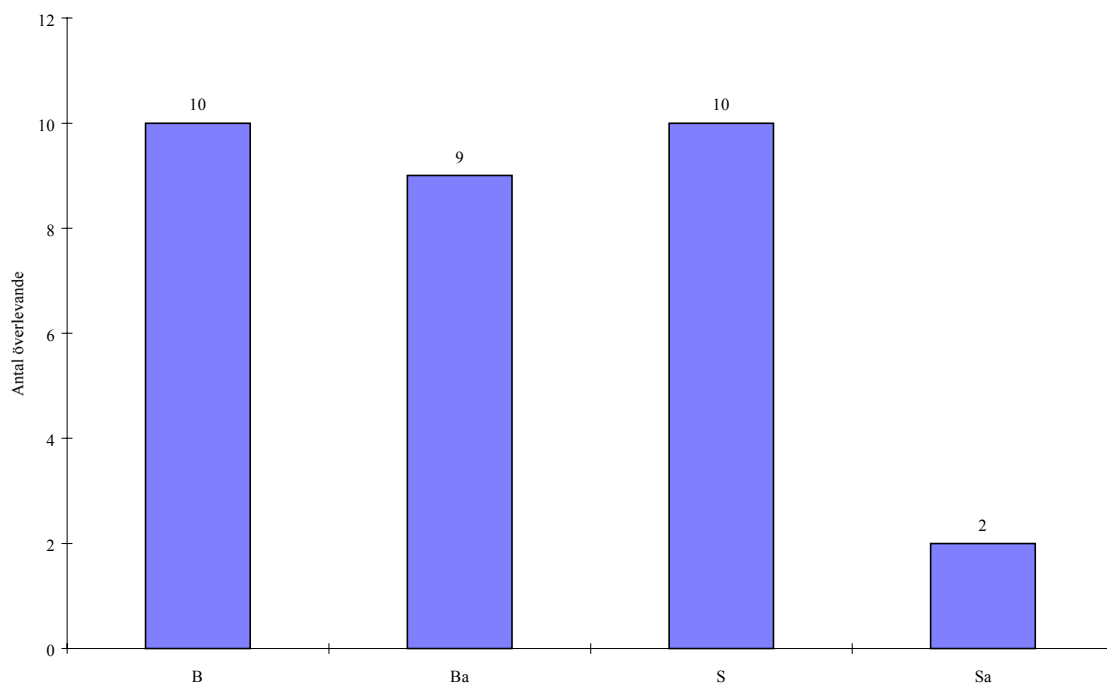
Hydraulolja	EC <sub>50</sub> (antal)	EC <sub>50</sub> (kläckning)
B	22	16
Ba	19	15
S	6	6
Sa	10	10

Till följd av oljornas obenägenhet att blandas med agarmediet kan värdena i tabellen ovan inte anses absoluta utan anger endast storleksordningen av oljornas toxiska påverkan. Redan vid koncentrationen 10 ml/kg agarmedium bildades ett oljeskikt över agarytan som med stigande oljekoncentration tilltog i tjocklek. Oljan trängde också ned i de gångar som maskarnas aktivitet åstadkommit i agarn. Maskarna kan därför ha exponerats för högre koncentrationer, pga kontakt med "rena" oljedroppar som ej lösts i agarn, än de som ligger till grund för beräkningarna av resultaten. Emellertid uppvisar resultaten ett tydligt dos-respons förhållande. Den lägsta testade koncentrationen 1 ml olja per kg agarmedium blandades tämligen väl med agarn. Här noterades ingen effekt (Figur 1).



Figur 1. *E. crypticus* Reproduktionsstest: Antal helt tömda kokonger efter exponering för hydrauloljorna Ba och Sa.

Materialet tillåter ingen fullständig statistisk bearbetning p.g.a. variansen i dos-respons förhållandet, men en tolkning av resultaten avseende lagt antal kokonger och deras kläckningsfrekvens tyder på att ingen skillnad tycks föreligga mellan oljorna före och efter teknisk användning. Vidare antyder resultaten i tabell 7 att oljan betecknad S förefaller vara mer toxisk än B. Emellertid konstaterades hög dödlighet hos maskarna i den högsta koncentrationen av oljan benämnd Sa, medan det vid testerna av de övriga oljorna (S, B, Ba) endast uppträdde enstaka dödsfall (Figur. 4). Härav framgår att oljan betecknad S är den mest akut toxiska. Skillnaden i akut toxicitet mellan oljorna S och Sa återspeglas emellertid i resultaten från reproduktionstesten (Tabell 7), eftersom maskarna i den högsta testkoncentrationen av både S och Sa lade kokonger endast vid teststart.



Figur 2. *E. crypticus*: Antal överlevande maskar i högsta koncentrationen, 50 ml olja/kg agar av hydrauloljorna B, Ba, S, Sa vid testslut.

### 3.7 Rajgräs

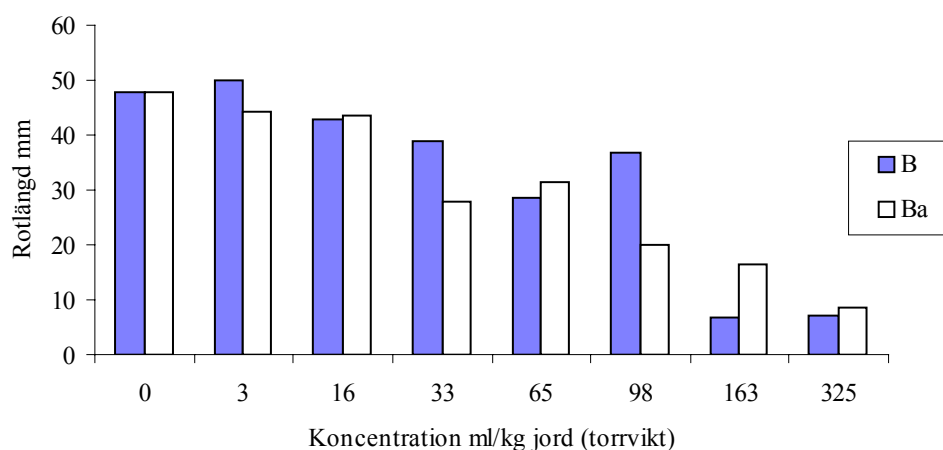
Tabell 8 samt figurerna 3 och 4 visar resultaten från testerna med engelskt rajgräs efter tre dygns exponering för hydrauloljorna före och efter teknisk användning. I bilaga 4 redovisas de fullständiga testprotokollen.

Tabell 8. Resultat från tester avseende rottillväxt hos engelskt rajgräs, uttryckta ml olja/kg jord (torrvikt).

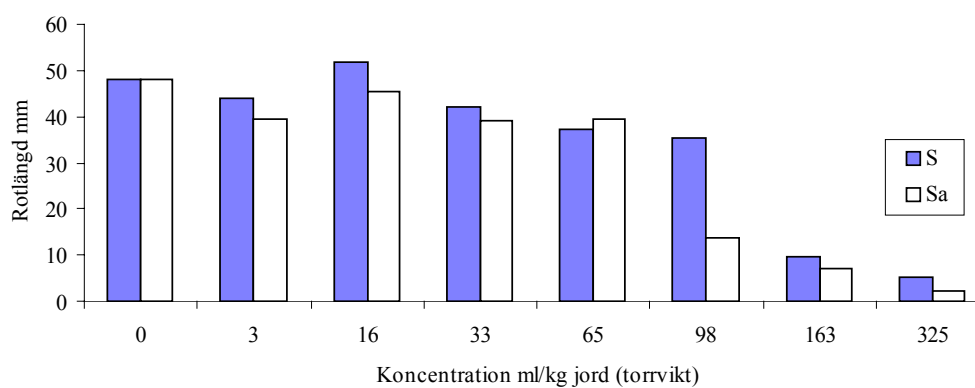
Hydraulolja	EC <sub>50</sub>
B	74
Ba	84
S	112
Sa	72

Liksom för masktesten ovan medförde oljans obenägenhet att blandas med mediet svårigheter att bereda bestämda koncentrationsserier. Oljan samlades i fördjupningar i filterpappret som täckte jordlagret och omgav ibland gräsfröet. Speciellt märktes detta i de båda högre koncentrationerna men kunde även iakttagas i flera av de lägre. Spridningen i resultaten var avsevärd och kan delvis förklaras av de koncentrationsskillnader som

uppkom på grund av oljeansamlingarna. Dos-responsförhållandet var inte lika tydligt i denna test som i den tidigare redovisade masktesten (Fig. 3, 4). Grafiskt framtagna EC<sub>50</sub> värden uppvisar emellertid toxicitet i samma storleksordning hos de båda undersökta oljorna. Materialet tillåter dock ingen fullständig statistisk utvärdering p.g.a. variansen. i dos-responsdata.



Figur 3. Rottillväxt hos engelskt rajgräs efter exponering för hydrauloljorna B och Ba.



Figur 4 Rottillväxt hos engelskt rajgräs efter exponering för hydrauloljorna S och Sa.

## 4. Toxic unit jämförelse samt ranking för de undersökta testsystemen

För att kunna jämföra effekterna i de olika testsystemen har beräkningar av Toxic unit (TU) utförts och baserats på kg vatten, jord eller agar.  $TU = 1/LC_{50}$  alt  $EC_{50}$  värdena. Jämförelsen haltar en hel del eftersom oljorna doserades direkt vid markttesterna. TU har beräknats utifrån  $LC/EC_{50}$  värden men där inga akuta effekter registrerades har beräkningar utförts vid  $LC_0$  effekt nivån. I tabell 9 redovisas resultaten av omräkning från  $LC/EC_{50}$ -värden till TU. Ett högt TU värde innebär en kraftig toxisk effekt.

Tabell 9. Toxic unit beräknade på  $LC/EC_{50}$  värden. För maskar har resultatet från kläckta kokonger använts.

Hydraulolja	Fisk	Kräftdjur	Alger	Bakterier	Maskar	Gräs
B	<1	<1	5,0	3,6	62	13
Ba	<1	<1	15	2,9	67	12
S	2,0	2,0	~100	3,3	167	8,9
Sa	1,9	1,2	100	3,4	100	14

Den bästa vägda jämförelsen av testsystemens känslighet samt de olika oljornas påverkan i de olika testsystemen erhålles med en icke parametrisk rankingtest enligt Wilcoxon-Mann-Whitney den sk. W-testen. Den okänsligaste testen erhåller ranken 1 och den känsligaste ranken 6.

I tabell 10 redovisas rankingresultat baserat på testsystemens känslighet enligt TU beräkningar.

Tabell 10. Ranking av känslighet i de undersökta testsystemen

	B	Ba	S	Sa	$\Sigma$
Fisk	1,5	1,5	1,5	2	5,5
Kräftdjur	1,5	1,5	1,5	1	5
Alg	4	5	5	5,5	19,5
Bakterie	3	3	3	3	12
Gräs	5	4	4	4	17
Mask	6	6	6	5,5	23,5

Rankingtesten visar att den sammantaget kraftigaste effekten erhålles för masktesten och de testsystem som gav lägst respons var kräftdjuren. Detta ger följande känslighetsranking för de undersökta testsystemen:

**mask>alg>gräs>bakterie>fisk>kräftdjur.**



En förklaring till att mask, alg och grästesterna är mer känsliga beror på att responsvariabeln reproduktion och tillväxt i dessa tester är känsligare än den responsvariabel som används för fisk och kräftdjur. Responsvariabeln ”dödlighet” kräver oftast högre koncentration av testad substans för att orsaka effekt än vad som krävs för att störa t.ex. tillväxten hos en organism. Exponeringstidens längd har också en avsevärd betydelse för de nivåer där effekt kan registreras. Testerna med gräs och mask pågår under en betydligt längre testperiod än de korttidsbaserade testerna med fisk, kräftdjur, bakterie och alg.

För att bedöma den sammantagna effekten av de olika testade oljorna kan de rankas på samma sätt för att ge en uppfattning vilken som ger minst resp mest effekt i de olika undersökta testsystemen. Resultaten redovisas i tabell 11 där den minst toxiska oljan erhåller ranken 1 och den mest toxiska oljan ranken 4.

Tabell 11. Ranking av de olika oljornas effekter i de undersökta testsystemen

	B	Ba	S	Sa
Fisk	1,5	1,5	4	3
kräftdjur	1,5	1,5	4	3
Alg	1	2	3,5	3,5
Bakterie	4	1	2	3
Gräs	3	2	1	4
Mask	1	2	4	3
<b>Σ</b>	<b>12</b>	<b>10</b>	<b>18,5</b>	<b>19,5</b>

Den sammanlagda toxiciteten som oljorna utövar kan rankas enligt följande:

$$\mathbf{Sa > S > B > Ba}$$

dvs den lägsta påverkan på testsystemen registrerades för oljan betecknad Ba och den högsta påverkan på testsystem av olja betecknad Sa.

## 5. Diskussion

Som nämnts tidigare har en hel del forskning rörande effekter av oljor utförts. Dessa undersökningar har till stor del fokuserats på effekter av icke raffinerade mineraloljors effekt vid spill och fartygshaverier. Vidare har även olika raffinerade mineralolje-produkters effekter i akvatiska system undersökts. Däremot har den nya generationen hydrauloljor med vegetabilisk eller helt syntetisk bas för användning i hydraulsystem på arbets- och skogsmaskiner, ej undersökts vad gäller ekotoxikologiska effekter.

De undersökningar som utförts enligt varuinformationsbladen (se bilaga 5) är nedbryt-

barhetstester som visade på ”lätt nedbrytbarhet” för de båda undersökta produkterna. De ekotoxikologiska bedömningen är ”troligen ej toxisk mot vattenlevande organismer” Detta baseras på att produkterna anses ”olösliga” i vatten. Av erfarenhet vet att man små mängder av ”icke lösliga” substanser löser sig i vatten. Ett exempel är pentakloranisol vars löslighet i vatten är ~15 µg/l vilket kan tyckas försumbart men effekter på embryonalutvecklingen hos fisk kan detekteras ned till 3 µg/l vilket gör att substansen betecknas som extremt toxisk mot fisk (Neilson et.al 1990).

Jämförelsen av TU samt rankingtester för de olika testsystemen visar att hydraulolja S är genomgående mer toxisk än B för samtliga testorganismer och responsvariabler, med undantag för tillväxten hos gräs. Spridningen i resultaten från grästesterna är stor och denna avvikelse kan bero på hur testsubstanserna applicerades. De hydrauloljor som ingått i denna studie visade att ~100 mg/l organiskt kol löser sig i vatten från de båda produkterna. I fallet med oljan B registrerades svaga till intermediära effekter i 2 av 4 av de vattenbaserade testsystemen i halter motsvarande maximalt 10 mg/l mätt som organiskt kol. De nivåer som OECD fastställt för bedömning av effekter i akvatisk miljö av kemikalier och blandningar är följande. Låg toxicitet >100 mg/l, intermediär toxicitet 100-10 mg/l, toxiskt 10-1 mg/l samt slutligen kraftigt toxiskt <1 mg/l Effekterna av oljan B betecknas därmed som intermediär toxicitet enligt OECD` s bedömningar. Hydrauloljan betecknad S visade sig ge intermediära till kraftiga toxiska effekter i samtliga undersökta testsystem. Den kraftiga effekten på tillväxt hos grönalg placerar oljan i gruppen kraftigt toxiska substanser enligt OECD` s normer.

## 6. Referenser

- Ahlbom, J. och Duus, U. 1992. Rena smörjan? Smörjmedel - möjlighet till förändring. Kemikalieinspektionen, rapport 8/92. ISSN 0284-1185.
- ASTM 1988 A subchronic 7-days toxicity test with fishlarvae
- Beckmans manual för Microtox™ test
- Dresel, W.H. and Heckler, R.P. 1994. Some aspects of tomorrows greases. NLGI Spokesman 58, 17-24.
- Hewstone, R.K. 1994. Environmental health aspects of lubricant additives. Sci. Total Environ. 156, 243-254.
- ISO 8692 -Water quality- Fresh water algal growth inhibition test with *Raphidocelis subcapitata* and *Scenedesmus subspicatus*

- Litchfield ,J.T and F Wilcoxon 1949. A simplified method of evaluating dose-effect experiments. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 96:99-113
- Mang, T. 1993. Environmentally harmless lubricants. Current status and relevant German environmental legislation. *NLGI Spokesman* 57, 9-15.
- Naturvårdsverket. 1993. Begagnade oljefilter. Nuvarande och framtida hantering. Naturvårdsverket, rapport 4260. ISBN 91-620-4260-2.
- Neilson A.H., Allard A.S.,Hynning P-Å.,Remberger M. and Viktor T. 1990 The environmental fate of chlorophenolic constituents of bleachery effluent *Tappi Journal* Vol 73 No 3.
- Nyffeler, A.,Gerber, H.-R., Hurle, K., Pestemer, W. and Schmidt, R. R. (1982). Collaborative studies of dose-response curves obtained with different bioassay methods for soil-applied herbicides. *Weed Research* 22: 213-222
- OECD. 1993. Guidelines for testing of chemicals. OECD, Paris.
- Persoone G.,and Vanhaecke P. 1981 Standardaized short term toxicity test with *Artemia nauplii* (ARC Test )
- SS 028112-3 Bestämning av torrsubstans
- SS 028199 Bestämning av löst organiskt kol
- Svensson A 1993 Microtoxtest, en metodbeskrivning, IVL publ B 1100
- Westheide, W. and Bethke-Beilfuss, D. 1991. The sublethal enchytaeid test system: guidelines and some results. In *Modern Ecology: Basic and Applied Aspects.* (Ed. G. Esser and D. Overdieck) Elsevier, Amsterdam.