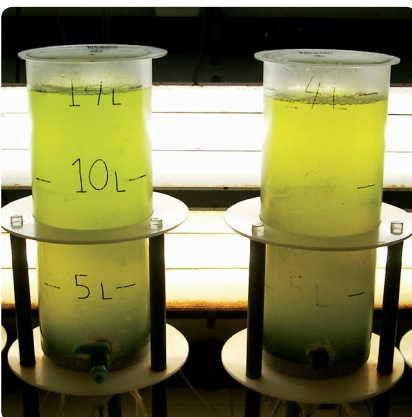


Kemisk och biologisk karakterisering av punktutsläpp till vatten

En handbok med vägledning om bestämning av
egenskaperna hos utsläpp av avloppsvatten

HANDBOK 2010:3 • UTGÅVA 3 • FEBRUARI 2011



Kemisk och biologisk karakterisering av punktutsläpp till vatten

En handbok med vägledning om bestämning av egenskaperna
hos utsläpp av avloppsvatten

Handbok 2010:3
Utgåva 3, reviderad version av utgåva 2
Februari 2011

NATURVÅRDSVERKET

Beställningar

Ordertel: 08-505 933 40

Orderfax: 08-505 933 99

E-post: natur@cm.se

Postadress: CM Gruppen AB, Box 110 93, 161 11 Bromma

Internet: www.naturvardsverket.se/bokhandeln

Naturvårdsverket

Tel: 08-698 10 00 Fax: 08-20 29 25

E-post: registrator@naturvardsverket.se

Postadress: Naturvårdsverket, 106 48 Stockholm

Internet: www.naturvardsverket.se

ISBN 978-91-620-0172-8.pdf

ISSN 1650-2361

Handbok, 2010:3 Utgåva 3

© Naturvårdsverket 2011

Elektronisk publikation

Omslag: SXC

Förord

Karakterisering av industriella utsläpp till vatten (KIU) har sedan 80-talet fått en relativt bred användning, både som stöd i tillsynsarbete och som kontroll i tillståndsärenden. Naturvårdsverkets Allmänna Råd¹ är tjugo år gamla och en utökad uppdatering har efterfrågats. Det är alltså frågan om en teknik som har använts länge i Sverige, och som gjort nytta i vår miljövard och fortfarande gör så i flera sammanhang.

Användningen i Europa ökar, även om den tillämpas mer begränsat i vissa länder. Inom ramen för OSPAR:s (Oslo-Pariskommissionen för skydd av Nordostatlanten) arbete med farliga ämnen har man under det senaste decenniet arbetat med att ta fram en gemensam syn på när arbete med WEA (Whole Effluent Assessment, den engelska beteckningen på metodiken) är överlägset bestämning av enskilda ämnen som underlag för bedömning av avloppsvattnets miljöfarlighet². EU:s direktiv för risk assessment av nya och befintliga ämnen ersattes genom införande av REACH, och ny vägledning³ har ersatt det tidigare Technical Guidance Document som stödde de utgångna direktiven, den tar i första hand upp undersökningar av enskilda ämnen, men i båda dessa dokumentsamlingar finns underlag att ta ställning till. Vidare ställer ramdirektivet vatten nya krav som delvis behöver kommenteras i en reviderad KIU-vägledning. Baserat på de samlade svenska erfarenheterna, samt på denna internationella utveckling har de tidigare anvisningarna nu reviderats.

Vägledningen vänder sig främst till tillsyns- och prövningsmyndigheter och till Naturvårdsverkets egna handläggare, samt till användare som industri, reningsverk och uppdragslaboratorier. Hur långtgående kraven ska vara måste bedömas i det enskilda fallet och med utgångspunkt från egenkontrollansvaret och bestämmelserna om tillsyn och provning. I arbetet har deltagit Thomas Olsson, Toxicon, Bengt-Erik Bengtsson och medarbetare på ITM, Stockholms Universitet, samt Dan Wikström och Åke Undén på Naturvårdsverket, den sistnämnde också redaktör för arbetet. Många kollegor på olika håll i Miljösvetig har bidragit med förbättringar av texten, vilket vi är mycket tacksamma för.

Stockholm i september 2010

NATURVÅRDSVERKET

Lena Callermo

Avdelningschef

¹ Naturvårdsverket (1989). Biologisk-kemisk karakterisering av industriavloppsvatten. Naturvårdsverkets Allmänna Råd 1989:5

² OSPAR (2007). Practical Guidance Document on Whole Effluent Assessment. OSPAR Commission, London

³ ECHA (2008a). Guidance on information requirements and chemical safety assessment. European Chemicals Agency

Innehåll

FÖRORD	3
INNEHÅLL	4
ORDLISTA	6
SAMMANFATTNING	12
Läsanvisning	13
SUMMARY	14
1 BAKGRUND	15
1.1 Tidigare arbete och en förnyad handledning	15
I HANDBOKEN	17
2 KIU-METODIK	18
2.1 KIU:s komponenter	18
2.2 Analys av ämne för ämne jämfört med karakterisering	22
2.3 Behov av karakterisering	23
3 KIU – ETT FÖRFARANDE I FLERA STEG	25
3.1 Hela sekvensen i punktform	25
3.2 Bedömning utgående från kända förhållanden	26
3.3 Karakterisering av komplexa avlopp	28
3.4 Bedömning utgående från enskilda ämnen	36
4 MILJÖRISKBEDÖMNING, ÅTGÄRDER OCH RAPPORTERING	38
4.1 Sällningstest (Steg I)	38
4.2 Utvidgad miljöriskbedömning	40
4.3 Miljöfarlighetskriterier för enskilda ämnen	50
4.4 Arbetsgång för uppföljning av ett enskilt fall	52
4.5 Åtgärder	57
4.6 Rapportering	58
II METODER OCH ERFARENHETER	59
5 TESTMETODER	60
5.1 Provtagning och provbehandling	60
5.2 Nedbrytbarhet	66

5.3	Bioackumulering	72
5.4	Biologiska toxicitetstester	77
5.5	Andra biologiska effekter	82
5.6	Toxicitet för mikroorganismer i reningsverk	84
5.7	Kemisk analys. TIE	85
5.8	Recipientundersökningar	85
5.9	Metodval	87
6	EXEMPEL PÅ TILLÄMPNING	89
6.1	Tillverkning av bindemedel	89
6.2	Urea/formaldehydharts	90
6.3	Vinyl/polyvinylklorid tillverkning	90
6.4	Olja och lack	91
6.5	Massa och papper	91
III	REFERENSMATERIAL	94
7	REGELVERK OCH LISTOR	95
7.1	Miljöbalken	95
7.2	REACH	95
7.3	Kemikalieinspektionens Prioriteringsguide (PRIO)	97
7.4	Vattendirektivet	99
8	METODSAMMANSTÄLLNING	102
8.1	Analyser och tester	102
8.2	Lista på standarder	104
9	KÄLLFÖRTECKNING	109
9.1	Naturvårdsverkets rapporter	109
9.2	Övriga referenser	110

Ordlista

Abiotiska faktorer	Icke-biologiska faktorer som temperatur, salthalt, syrehalt, pH
Aerob stabilisering	Luftning av avloppsvatten med aktiva mikroorganismer med sikte på nedbrytning till stabila slutprodukter
Akut toxicitet	Test med kort varaktighet i förhållande till testorganismens livscykel. Nu även: Sådana effekter som uppstår efter en eller flera exponeringar inom 24 timmar.
Antagonism	Motsättningsförhållande som råder mellan ämnen vilka vid blandning uppvisar lägre giftighet än vad som kunde förväntas utifrån de enskilda ämnenas giftighet
AOX (adsorbable organic halogen)	Organiskt bunden halogen, adsorberbar på aktivt kol
B	Bioackumulerbarhet
BCF (biological concentration factor)	Biokoncentrationsfaktor
Bioackumulerande ämnen	Substanser som har tendens att upplagras i levande vävnader
Biokoncentrer	Uppbyggnad av högre koncentration i vattenlevande organismers vävnad än vad som föreligger i det omgivande vattnet
Biomagnifiering	Anrikning i en näringskedja
Biomassa	Mängd (vikt) biologiskt material; kan mätas som färskvikt eller (vanligen) som torrsvikt
Biomimetisk	Livshärmande
Biostabilisering	Det avlägsnande av nedbrytbart material som sker i ett biologiskt nedbrytbarhetstest
Biotiska faktorer	De som bestäms av de levande delarna i ekosystemet

Blandningszon	Område närmast utanför en utsläppspunkt, vars storlek bestäms av kriterier i ramdirektivet vatten
BMF	Biomagnifieringsfaktor
BOD (Biochemical oxygen demand)	Biokemisk syreförbrukning anger mängden syre som förbrukas vid biokemisk oxidation av organisk substans under specificerade betingelser
CEN (The European committee for standardization)	Europeiska standardiseringskommittén
CMR	Cancerogen, mutagen, reproduktionstoxisk
COD (Chemical oxygen demand)	Kemisk syreförbrukning, genom våtkemisk oxidation bestämt närmevärde på den teoretiska syreförbrukningen (ThOD)
DOC	Löst organiskt kol
Dos-responskurva	Kurva som visar testade organismers svarsreaktioner på de doser (koncentration x tid) de utsätts för
EC50 (Median effective concentration)	Den koncentration av en testsubstans som förorsakar specificerad effekt hos hälften av ett antal testade organismer
ECHA (European Chemicals Agency)	Europeiska kemikaliemyndigheten
EGOM	Extraherbart gaskromatograferbart organiskt material
EIA (Environmental impact assessment)	MKB (Miljökonsekvensbeskrivning)
Ekotoxikologi	Läran om effekter av gifter i den yttre miljön
Ekvibrering	Jämviktning
EN (European norm)	Europeisk standard

FELS (Fish early-life stage)	Test med embryo och tidiga juvenila stadier på fisk
Fördelningskonstant	Förhållandet mellan koncentrationerna av en substans i jämvikt mellan två vätskefaser, vanligen vatten och ett opolärt lösningsmedel
Gentoxiska effekter	Ett ämnes påverkan på arvsmassan i cellerna via olika mekanismer
GLP (Good laboratory praxis)	God laboratorised
HELCOM	Helsingforskommissionen för skydd av Östersjön
HPLC	Högtrycks- eller högprestandavätskekromatografi
Inokulum	Ympsats i en odling
In vitro	(Eg.: 'i glas(kärl)'), anger att experiment eller iakttagelser är gjorda i reaktionskärl, provrör, odlingskål e.d., dvs. i en konstgjord miljö och inte i en levande kropp (<i>in vivo</i>).
In vivo	('i (den) levande (kroppen)'), anger att experiment eller iakttagelser är gjorda på levande organismer. Jfr <u>in vitro</u> .
KIU	Karakterisering av industriella utsläpp
K_{ow}	Fördelningskoefficient oktanol – vatten
Kronisk (långtids) toxicitetstest	Test med lång varaktighet, som kan omfatta mer än en generation av testorganismen. Avsikten är att registrera effekter som visar sig först efter lång tid och ev. inte kan upptäckas i ett akutttest
LC50 (Median lethal concentration)	Anger den koncentration av ett ämne (eller avloppsvatten) som dödar 50 % av testorganismerna under en given exponeringsperiod, vanligen 24, 48 eller 96 timmar

LOEC (Lowest observable effect concentration)	Lägsta koncentrationen av ett ämne som ger observerbara effekter i ett givet biologiskt system
Mineralisering	Fullständig oxidation av ett ämne till koldioxid, vatten och salter
Mutagentest	Test av ett ämnes (eventuella) förmåga att förändra organismers arvsanlag
Nedbrytbarhet	Ett ämnes mottaglighet för biologisk eller annan påverkan, som leder till att struktur och egenskaper förändras
Nitrifikation	Mikrobiell oxidation av NH_3 till NO_2 och NO_3
NOEC (No observed effect concentration)	Högsta koncentrationen av ett ämne som inte ger observerbara effekter i ett givet biologiskt system
OSPAR	Oslo-Pariskommissionen för skydd av Nordostatlanten
P	Persistens (motsatsen till nedbrytbarhet)
PEC (Predicted environmental concentration)	Beräknad koncentration i recipienten
PBS	Potentiellt bioackumulerande substans
Persistent	Mycket långsamt eller ej nedbrytbart i naturen
PNEC (Predicted no effect concentration)	Den beräknade högsta koncentration som inte ger effekt i recipienten
POPs (Persistent organic pollutants)	Persistenta organiska miljöföroreningar
QSAR	Quantitative Structure-Activity Relationship
Recipient	Den vattenmiljö som tar emot ett föroreningsutsläpp

Reproduktionstester	Tester där effekter på fortplantningen studeras
Screeningtest	Snabb undersökning som ger prioriteringsunderlag för ev. fortsatta undersökningar
Semistatisk test	Testlösningen i testkärnen byts med jämna mellanrum under försöket
Simuleringstest	(Nedbrytnings)test där betingelserna så långt som möjligt anpassats för att simulera utsläppsförhållanden i en aktuell miljö
Spädningszon	Område närmast utanför en utsläppspunkt, vars storlek bestäms av krav på fullständig uppblandning mellan avloppsflöde och ytvatten
Statiskt test	Vattnet i testkärnen byts inte under försöket
STORK	Projektet Stabila organiska kemikalier i kemiindustrins utsläpp till vatten (1988-1996)
Subkronisk	Test som inte är lika långvarigt som ett kroniskt
Subletal	Ej dödlig (oftast beteckning för andra, mindre drastiska skadeeffekter)
Synergism	Samverkan mellan ämnen, som gör att effekten blir starkare än vad ren addition av enskilda effekter skulle bli
T	Toxicitet
TEF	Toxisk emissionsfaktor, $TU \cdot V_{avlopp}$
TGD	Technical Guidance Document on Risk Assessment (EG), nu ersatt av vägledning från ECHA
TIE (Toxicity identification evaluation)	Toxicitetsidentifiering

TLC	Tunnskiktskromatografi
Toxisk enhet (TU, toxic unit)	Koncentrationen av toxiskt avloppsvatten uttryckt som den omvända effektkoncentrationen, ofta 100/EC50 för akuta effekter eller 100/NOEC för kroniska
TOC (total organic carbon)	Totalt organiskt kol
TOCl	Totalmängden klor, som är kemiskt bunden till organiska ämnen
USEPA	US Environmental Protection Agency
vB (very bioaccumable)	Starkt bioackumulerande, mycket benäget att bioackumulera
vP (very persistent)	Starkt persistent, mycket svårnedbrytbart
Xenobiotisk substans	Ämne som inte produceras naturligt – vanligen av människan framställd kemikalie

Sammanfattning

Karakterisering av Industriella avloppsvatten (eller Utsläpp – KIU) är en metodik för att med biologiska tester och kemiska analyser påvisa förekomst av svårnedbrytbara, bioackumulerbara och/eller toxiska ämnen, dvs. miljöfarliga ämnen, i avloppsvatten eller andra komplexa blandningar.

I handboken beskrivs motiv för biologisk-kemisk karakterisering och i vilka sammanhang som denna typ av kunskapsinhämtning har visat sig mest givande. Hit hör fastställande av krav på industrier med komplexa avloppsvatten, optimering av funktionen hos reningsanläggningar, miljöanpassning av processer, råvaror eller hjälpkemikalier, m.m. En viktig tillämpning har också varit utvärdering av genomförda åtgärder vid industriella reningsanläggningar.

Översiktligt presenterar skriften vad KIU är och vilka huvudsakliga metoder som står till buds. Det har inte varit möjligt att göra denna redovisning heltäckande – metoder kan vara sedan länge etablerade standarder, väl etablerade metodbeskrivningar som ännu inte nått standardstatus, eller mer eller mindre väl etablerade utvecklingsprodukter. För utförliga beskrivningar måste standarder eller motsvarande källor uppsökas, här ges bara korta eller principiella beskrivningar.

Syftet med den biologisk-kemiska karakteriseringen av industriutsläpp är att skapa underlag för riskanalyser, dvs. bedömning av om ett utsläpp är acceptabelt med avseende på risken för skador på recipienten, som kan vara ett ytvatten eller ett reningsverk. Testförfarandet bygger på ett stegvis uppbyggt system av relativt enkla och snabba tester av korttidskaraktär i ett första steg, följt av utökade eller noggrannare undersökningar om resultaten eller andra omständigheter motiverar det. Hur långtgående kraven ska vara måste bedömas i det enskilda fallet och med utgångspunkt från egenkontrollansvaret och bestämmelserna om tillsyn och prövning.

I handboken ges rekommendationer för planering, genomförande och utvärdering av undersökningsresultaten. Anvisningar lämnas också för provtagning och provbehandling.

Läsanvisning

- En läsare som är bekant med KIU som begrepp, men önskar en checklista för utförande och utvärdering kan gå direkt till del I, avsnitt 2 och följande, den egentliga handboken. Begrepp förklaras i allmänhet första gången de förekommer i texten, men har också samlats i ordlistan på sidan 6.
- Avsnitt 2 beskriver översiktligt hur arbetet läggs upp och när analys av ämne för ämne kan övervägas som alternativ till karakterisering av helt prov.
- Avsnitt 3 går igenom de undersökningssteg som skall övervägas.
- Avsnitt 4 går igenom vilka möjligheter till uttolkning av resultaten som erbjuds, ger korta riktlinjer för utvärdering, inklusive miljöriskbedömning av toxicitet i första hand, med tabellering av säkerhetsfaktorer som beror av bredden av organismer i underlaget, och bestämningsnoggrannhet, bl.a., och listar möjliga åtgärder.
- Avsnitt 5 redovisar kortfattat analys- och testmetoder för nedbrytbarhet, bioackumulerbarhet och toxicitet i första hand, med tillämpning i olika typer av recipienter, och ger anvisningar för provtagning och provbehandling.
- Avsnitt 6 beskriver kortfattat några exempel på hur metodiken har använts, och
- Avsnitt 7 innehåller referensmaterial i första hand knutet till bedömningar av ämne för ämne.
- Avsnitt 8 ger en bruttolista med referenser och standarder för analys- och testmetoder.
- Referenser har samlats i avsnitt 9.

Summary

Whole Effluent Assessment (WEA) uses a combination of biological tests and chemical analyses to demonstrate whether there are substances hazardous to the environment in an effluent, i.e. substances that are persistent, liable to bioaccumulate and toxic.

This guidance document describes under what circumstances WEA gives added value compared to a substance by substance analysis. In particular this is true for the evaluation of whether treatment of complex wastewaters is adequate, and how a wastewater composition may be improved by process development, substitution of raw materials, etc. This evaluation is part of many permit applications, for instance. An important additional application is to verify the results of measures taken in an industrial wastewater treatment plant.

The document gives an overview of WEA methods, with brief accounts of standard methods in particular, but also of advanced methods under development that have not yet reached standard status. For full protocols the appropriate standards must be consulted.

The results are evaluated in a risk assessment that demonstrates whether a discharge is acceptable or if there is a risk for damage on the biota of the recipient water. The testing is performed in a stepwise mode, starting with relatively simple and quick tests, which may be supplemented with more advanced or long-term tests if required. Guidance is given for planning and evaluation of the results, as well as for sampling and sample treatment.

1 Bakgrund

1.1 Tidigare arbete och en förnyad handledning

Metodik för biologisk och kemisk karakterisering av industriella utsläpp (KIU) av avloppsvatten har sedan slutet av 70-talet använts för att få fram bedömningsunderlag vid prövning och omprövning i tillståndsärenden, vid tillsyn av miljöfarlig verksamhet, etc. En första rapport om karakterisering av industriella avloppsvatten kom redan 1982, som en sammanfattning av ett flerårigt projektarbete. Anvisningarna kompletterades 1989 och utkom som verkets Allmänna råd 89:5, "Biologisk-kemisk karakterisering av industriavloppsvatten".

Tillämpningen av metodiken i projekten med skogsindustrin (Miljö/Cellulosa)⁴, med kemiindustrin (STORK, Utsläpp av stabila organiska ämnen från kemiindustrin)⁵ och kommunala reningsverk med industriell belastning (MOLA, Naturvårdsverkets mobila laboratorium)⁶ i början av 90-talet bekräftade arbetssättets användbarhet. Bl.a. visade dessa undersökningar att även små anläggningar kan orsaka vattenutsläpp av betydelse om man ser till mängden PBT-ämnen (persistenta, bioackumulerbara och toxiska ämnen). Metodiken har sedan dess använts inom många sektorer, särskilt i samband med tillståndsprövning.

Med Miljöbalken följde också egenkontrollbestämmelserna i kombination med kunskapskravet i hänsynsreglerna, som innebär att verksamhetsutövare skall ha erforderlig kunskap också om egenskaperna hos utsläpp till vatten, och därför vid behov själv genomföra mätningar som beskrivs i denna handbok, om dessa kunskaper saknas eller har blivit föråldrade.

Den nya handboken bygger naturligtvis på dessa erfarenheter och arbeten men tar också upp EU:s gällande regler för riskbedömning av nya och existerande kemiska ämnen (REACH, se avsnitt 7.2). Dessa regler grundas på allmängiltiga toxikologiska kriterier för riskanalys, som med mindre anpassningar lämpar sig mycket väl för miljöriskanalyser för utsläpp från industrier, reningsverk och deponier.

Ett undersökningsprogram innehåller flera steg, där olika kemiska miljöanalyser och biologiska screeningtester utgör det första steget. Handboken föreslår ett antal standardiserade testmetoder i vad som kan kallas för ett grundpaket, men utesluter

⁴ Naturvårdsverket (1988). Biologiska effekter av blekeriavlopp. Slutrapport från projektområdet miljö/cellulosa I. Rapport 3498

⁵ Naturvårdsverket (1996). Karakterisering av utsläpp från kemiindustrin. STORK-projektet. Rapport 4621

⁶ Naturvårdsverket (1994a). Industribelastning på kommunala reningsverk. Med inriktning på nitrifikationshämning. Rapport 4376. Flera rapporter under 90-talets första hälft, varav denna är en

inte andra testmetoder, om de utförs enligt god laboratorised för kvalitet (GLP) och har relevans för bedömningen. Om man behöver ytterligare utredningsunderlag för att förfinas miljöriskbedömningen eller för att kunna ta ställning till behovet av utsläppsbegränsande åtgärder kan undersökningar därefter genomföras på delströmmar eller med hjälp av mera kostnadskrävande specifika analys- och testmetoder.

Fortfarande finns svårigheter med tolkning och tillämpbarhet när det gäller persistens och bioackumulerbarhet, men svenska erfarenheter visar att metodiken kan användas också i dessa avseenden. En annan brist som framhållits från industrihåll är att metodiken ställer krav på speciella resurser och kunskaper och att det kan vara svårt att finna laboratorier som underhållit tester i en period av låg eller sjunkande efterfrågan. I flera fall utförs analyser eller tester utomlands, eftersom efterfrågan är större internationellt. Utöver kommersiella laboratorier utför också forskningsinstitutioner tester. Det är också viktigt att få resultaten bedömda av kompetent ekotoxikologisk expertis.

I denna revision har vi knutit an till diskussioner om mätning på sammansatta prover gentemot mätning avseende enskilda ämnen, och till den utveckling som sker och skett i EU i form av vägledning för säkerhetsbedömning under REACH (Guidance on information requirements and chemical safety assessment, European Chemicals Agency 2008), och i Oslo-Paris-konventionsarbetet för Nordostatlanten (OSPAR). Oavsett om ett utsläpp sker till sött eller salt vatten är det samma typ av överväganden som behöver göras.

I Sverige har vi använt metodiken i huvudsak som en del i tillståndsprövningsprocessen. Detta kan ske genom att verksamhetsutövaren i sitt underlag för ansökan bifogar en KIU-undersökning, som demonstrerar att den vattenbehandling man förfogar över uppfyller miljökraven. Alternativt får verksamhetsutövaren under prövningsprocessen i uppgift att visa att de anläggningar man uppfört för en ny eller utbyggd produktion efter en prövotid uppfyller dessa krav.

Vill en verksamhetsutövare släppa sitt avloppsvatten till ett kommunalt eller annat externt reningsverk ställer huvudmannen för detta motsvarande krav på att vattnet skall visas behandlingsbart och inte innehålla ämnen som påverkar reningsprocessen negativt.

I flera andra europeiska länder och i Nordamerika används toxicitetsundersökningar också i regelbunden tillsyn. USEPA beskriver bl.a. ett flerstegs förfarande (TIE) för att karakterisera, identifiera och reducera giftiga ämnen, akut och kroniskt.⁷

⁷ USEPA (1991b). Methods for aquatic toxicity identification evaluations. Phase I Toxicity characterization procedures, 2nd ed.; USEPA (1993a). Methods for aquatic toxicity identification evaluations. Phase II Toxicity identification procedures for samples exhibiting acute and chronic toxicity; USEPA (1993b). Methods for aquatic toxicity identification evaluations. Phase III Toxicity confirmation procedures for samples exhibiting acute and chronic toxicity

I Handboken

2 KIU-metodik

KIU används normalt för bestämning eller bedömning av egenskaperna hos sammansatta eller komplexa avloppsvatten med ett förhållandevis stort antal ämnen. Undersökningar i OSPAR⁸ har visat att i fall som dessa är det kostnadseffektivt att genomföra ett KIU-program. Det ger också mer relevant information om miljöegenskaperna än att försöka analysera alla insatsämnesrester, mellanprodukter, produkter, biprodukter och nedbrytningsämnen. Omvänt kan det vara en bättre väg att gå att bestämma ingående ämnen i avloppsvattnet, om antalet är litet, och syntes- och nedbrytningsreaktioner välkända. Ofta ger en kombination bäst kunskap och underlag för åtgärder.

Det underlag som behövs för att bedöma miljöfarligheten hos ett avloppsvatten kan bestå av mycket information, bl.a. är recipientförhållanden och processernas råvaror, tillsatskemikalier och produkter inklusive bi- och nedbrytningsprodukter betydelsefulla. Ofta kan dokumenterad kunskap om liknande industriprocesser ge värdefulla upplysningar. Många gånger är denna basinformation tillräcklig som beslutsunderlag.

När inte tillgänglig basinformation räcker är nästa steg kemiska och biologiska screeningtester. Här efterfrågas branschvisa utformningar av användarna, men tills vidare föreslås ett enhetligt grundpaket till vilket kan läggas specifika kemiska analyser, och också flera biologiska tester beroende på verksamhetens art. I ytterligare steg kan sedan testbatteriet utvidgas och specialiseras, men kunskapen om anläggningen kan också motivera att man direkt använder ett testbatteri med mera avancerade metoder.

Ett specialfall är toxicitetsidentifiering (TIE), där man söker substanser eller substansgrupper som ger upphov till den observerade toxiciteten, och eventuellt går uppströms från det samlade avloppsflödet i delströmmar för att identifiera källan till en funnen toxicitet.

2.1 KIU:s komponenter

Miljöriskanalysens mål är att kvantifiera risken att avloppsvattnet orsakar oacceptabla skador på miljön. Utsläpp av kemiska ämnen i avloppsvatten innebär oftast någon form av påverkan i vattenmiljön även om den kanske inte är skadlig eller ens mätbar med känd teknik. Den miljöpåverkande effekten kan vara godartad eller kortvarig utan bestående effekter för individer, arter eller ekosystem om utsläppet är tillfälligt. Påverkan kan också ändra organismers levnadsbetingelser utan att effekten bedöms vara skadlig. Beroende på typen av påverkan är det möjligt att

⁸ OSPAR (2004). OSPAR practical study 2003 on whole effluent assessment. OSPAR Commission, London

hitta exempel på både acceptabla och oacceptabla effekter. Större påverkan kan ge skador på enskilda individer och arter utan att balansen i ekosystemet därmed med nödvändighet förändras. Påverkan får inte leda till bestående effekter för populationer, arter eller olika trofinivåer. Det är därför viktigt att förstå hur olika biologiska effekter värderas i riskanalysarbetet.

Miljöfarlighetsmått som är kopplade till långvarig påverkan på den akvatiska miljön är persistens, bioackumulerbarhet och kronisk toxicitet. Persistens mäts med ett omvänt mått, nedbrytbarhet. Ofta använder man akut toxicitet, särskilt i översiktliga screeningundersökningar. Nedbrytningen och bioackumuleringen är resultat av biologiska processer, men de kvantifieras initialt med kemiska metoder.

Andra mått som kan vara viktiga för att bedöma miljöfarlighet i den akvatiska miljön är endokrina störningar och mutagenicitet. Dessa variabler uppmärksammas i ökande grad både när det gäller enskilda ämnen och komplexa vattenutsläpp.

2.1.1 Nedbrytbarhet

Nedbrytning innebär för det mesta en minskning av de ekologiska risker som kan vara knutna till ett ämne, men nedbrytnings- eller omvandlingsprodukter kan ibland vara mer miljöfarliga än utgångssubstanserna. Man skiljer därför mellan fullständig nedbrytning (även kallad mineralisering) och partiell nedbrytning (omvandling). Ämnen kan också försvinna ur recipienten utan att för den skull brytas ned, om de adsorberas sedimenterande partiklar, och då fortsatt kan utgöra en risk till exempel för sedimentlevande organismer.

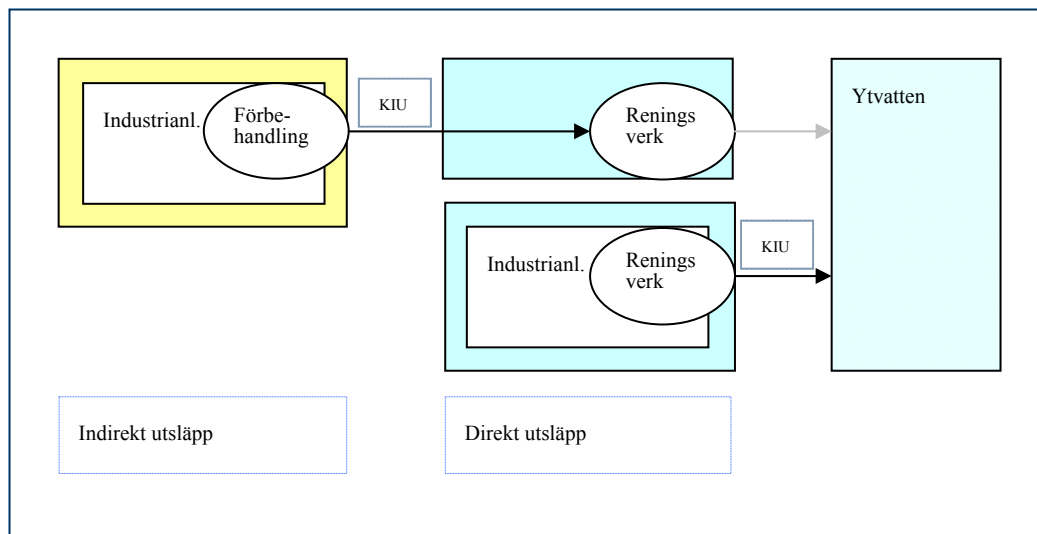
Naturligt förekommande organiska ämnen bryts dock mestadels ned fullständigt relativt snabbt, som en del av primärproducenters livscykel, mikrobiell omvandling dominerar här, och denna reduktion kan synliggöras med BOD₇-mätning. Metabolism hos högre organismer spelar en mindre roll, och likaså abiotiska (kemiska och fysikaliska) processer, som hydrolys och fotolys, även om dessa processer kan vara betydelsefulla för vissa substanser.

Benämningen persistenta ämnen används i regel synonymt med svårnedbrytbara eller långsamt nedbrytbara ämnen. En grov klassificering kan göras i: lätt nedbrytbar – nedbrytbar – svårnedbrytbar.

Graden av bionedbrytbarhet hos föroreningarna i avloppsvattnet bedöms med test där vattnet ympas med avloppsvatten och får stå under behandling i 28 dygn, eller mer. Olika ypmängder används beroende på vilken typ av recipient som skall ta emot vattnet. Metoderna beskrivs översiktligt i avsnitt 5.

KIU är tillämpligt både på direkta utsläpp (direkt till en ytvattenrecipient), och på indirekta (dvs. sådana som leds till behandling i ett externt, vanligen kommunalt, reningsverk), figur 2.1. Båda dessa utflöden kan orsaka negativa effekter i mottagande ytvatten eller anläggning. En tredje tillämpning är test på delströmmar som

leds till ett internt verk. Metodiken ger inte mycket information om utflödet från ett kommunalt reningsverk, där eventuella kvarvarande farliga ämnen är starkt utspädda. Däremot kan många mindre och vart och ett acceptabla bidrag till inkommande vatten till ett sådant verk orsaka stora utsläpp av "oönskade ämnen", men i låg koncentration. Med KIU-metodikens enklaste sållningsfunktion (3.3.3.2) bör många sådana utsläpp från mindre verksamheter kunna identifieras. Som nämnt ovan ankommer det på reningsverkens huvudmän att ställa krav på sådana undersökningar. Olika testmetoder används för att undersöka nedbrytbarheten i respektive fall.



Figur 2.1. Indirekta och direkta utsläpp.

2.1.2 Bioackumulerbarhet

Om förhöjda halter av en substans uppträder i organismer i förhållande till omgivningen säger man att substansen bioackumuleras. Sker upptaget i en vattenlevande organism från vattnet kallas det biokoncentrering, medan ökade halter via födan till högre trofnivåer är biomagnifiering. Metoder för att bestämma biokoncentrering finns, däremot inte för biomagnifiering. Bedömningen utgår därför från biokoncentreringsfaktorn (BCF).

$$BCF = (\text{konc. i organismen, t.ex. hel fisk}) / (\text{konc. i vattnet vid jämvikt})$$

För att kunna uppnå jämvikt håller man koncentrationen av provet konstant under testet. Om substanser i provet metaboliseras erhålls ingen konstant halt, vilket medför att BCF inte kan bestämmas.

Det finns god korrelation mellan biokoncentreringsfaktorn (BCF) för en organisk substans och dess fördelningskonstant i tvåfasset systemet n-oktanol/vatten (K_{ow}). Den potentiella bioackumulerbarheten bedöms med hjälp av fördelningen mellan oktanol och vatten genom kromatografisk separation tillsammans med standardsubstanser. Alternativt används adsorption till ett polymermembran eller -fiber,

med efterföljande kromatografi. Metoderna får en noggrannare genomgång i avsnitt 5.

2.1.3 Biologiska effekter

2.1.3.1 TOXICITET

Giftverkan på olika försöksorganismer (från olika trofnivåer, bakterier, alger, kräftdjur, fiskar, osv.) kan mätas i form av försämrad överlevnad eller som subletala effekter på reproduktion, tillväxt, fysiologi, m.m. Gifteffekter indelas ofta i akuta och kroniska, beroende på hur snart de uppträder när organismen exponeras. Ett kroniskt test skall i princip omfatta hela eller större delen av organismens livscykel. Det kan vara mer ändamålsenligt att i detta sammanhang tala om korttids- (screening-) och långtidstester. Beroende på eventuella tidigare testutfall och eventuellt kända ämnen i avloppsvattnet, så kan behovet av att utföra nya biologiska tester variera med hänsyn till den kunskap man har om ämnens egenskaper.

Effekter på överlevnad studeras normalt under kort tid (24, 48 eller 96 timmar) och anges som LC50 (den koncentration som är dödlig för 50 % av försöksorganismerna). Detta är ett förhållandevis grovt toxikologiskt mått och ger bara utslag för ämnen som är akutgiftiga. Trots metodernas relativa okänslighet påvisar LC50-värden ett avloppsvattens mest drastiska miljöfarliga egenskaper. Har man tillgång till LC(EC)50-värden för flera exponeringstider kan man se om den akuta effekten hinner stabilisera sig under testperioden. Fortsätter värdena att sjunka tyder det på att kronisk påverkan föreligger. Om akutttest visar en oacceptabel effekt så bör det föranleda åtgärder, i sådana fall går det att undvika dyrare kroniska tester. Beroende på organism är det en fråga om varaktighet och utvärderade effekter. Fördjupade fiskstudier kan omfatta flera generationer, könsmognad, leverfunktion, immunförsvar, hematologi bl.a.

2.1.3.2 ENDOKRINA EFFEKTER

Att identifiera ämnen som kan orsaka endokrina störningar och att kvantifiera dem i miljöprover kan vara komplicerat och dyrt. En annan väg är att först undersöka om det finns hormonstörningar hos organismer i den aktuella recipienten (ytvatten), och i så fall utreda vilka utsläpp som kan orsaka detta. En sådan testmetod är att undersöka estrogena effekter genom att mäta ägguleproteinet vitellogenin i blodplasma hos fiskhannar. Det finns metoder lämpliga för avloppsvattentest (5.6).

2.1.3.3 KOMBINATIONSEFFEKTER

Med kombinationseffekter avses synergism och antagonism. Dessa effekter behöver en särskild bedömning när man utgår från en miljöbedömning för enskilda ingående ämnen, vilket alltså är aktuellt framför allt för rena fysikaliska blandningsprocesser när det är ett fåtal kända ämnen. Vid karakterisering av avloppsvattnet fångar olika biologiska tester upp effekter (inkl. eventuella kombinationseffekter) från det totala föroreningsinnehållet. En erfarenhet är dock att synergistiska

kombinationer är ovanliga och att addition av olika komponenteffekter ger en bra beskrivning (Backhaus et al. 2010)⁹.

2.1.4 Kemisk analys

Ett viktigt komplement i KIU-metodiken är att analysera enskilda ämnen (se 2.2). För ett avloppsvatten som innehåller ett fåtal kemiska ämnen med kända egenskaper kan en sådan karakterisering genom kemiska analyser vara ett fullgott alternativ om man kan bortse från positiva eller negativa kombinationseffekter (synergism eller antagonism). Kemisk karakterisering av ett komplext avloppsvatten med okänt eller delvis känt innehåll av kemiska ämnen kan av praktiska och ekonomiska skäl inte göras fullständig. En fullständig kemisk karakterisering av ett komplext avloppsvatten kräver dessutom oftast ett omfattande utvecklings- och analysarbete.¹⁰

2.2 Analys av ämne för ämne jämfört med karakterisering

Standardmetoderna för nedbrytbarhet och toxicitet är oftast utvecklade för att bestämma egenskaper hos rena ämnen. För tillämpningar på komplexa vatten med blandningar av kända och okända ämnen har metoderna sedan anpassats med mer eller mindre lyckade resultat. Det är särskilt svårt att kvantifiera nedbrytbarhet hos ett sådant okänt prov, och därför har bl.a. i arbete i OSPAR förordats att nedbrytbarhet endast kan bedömas tillsammans med bioackumulerbarhet respektive toxicitet. Man har också anfört att mycket svårnedbrytbara material som polymerer bör ses som inerta, och att nedbrytbarhet därvid förlorar sin mening.

Med avseende på bioackumulering finns också en ifrågasättande diskussion: hur väl simulerar olika extraktionsmetoder egenskaperna hos biologisk vävnad? Här finns också svårigheter att kvantifiera en blandning med ett enhetligt mängdmått. Toxicitetstesterna är bäst anpassade till KIU-studier, men också där måste man uppmärksamma risker för störningar som ger falska resultat. En del sådana problem berörs i metodgenomgången i avsnitt 5.

Dessa problem gör att bestämning ämne för ämne snarare än karakterisering av komplext avlopp har förespråkare. I denna diskussion tar man inte hänsyn till att man därvid kan missa cocktaileffekter som är starkare än summan av enskilda ämnens inverkan, och att enbart analys av enskilda ämnen kan ge en orimlig arbetsbelastning om antalet komponenter är stort. Det kan då vara fråga om att identifiera och kvantifiera såväl råvaror som mellanprodukter, nedbrytningsprodukter och produkter. I dessa fall kan en inledande KIU-undersökning följas upp med

⁹ Backhaus, T, Blanck, H & Faust, M (2010). Hazard and risk assessment of chemical mixtures under REACH. KemI rapport

¹⁰ OSPAR (2004). OSPAR practical study 2003 on whole effluent assessment. OSPAR Commission, London

analys av misstänkta ämnen om man finner betydande effekter. Ett mellansteg kan vara att analysera med avseende på funktionella grupper där sådana misstänks spela en roll för påverkan.

I den här handboken förordas i de flesta fall tillämpningen på komplexa avlopp, som kan resultera från processindustri eller verksamhet med stor kemikalieanvändning. För industrier där endast fysikaliska processer (vanligast blandning) utförs, eller där behandling med kemikalier utförs och där antalet komponenter i processen är få, kan det ge större precision att analysera ämne för ämne, under förutsättning att deras miljöegenskaper är kända.

2.3 Behov av karakterisering

En bedömning av behovet av karakterisering kommer alltså i första hand ifråga för anläggningar med ett komplext avloppsvatten med okänt innehåll och okända miljöegenskaper. Faktorer som kan påverka detta ställningstagande är exempelvis

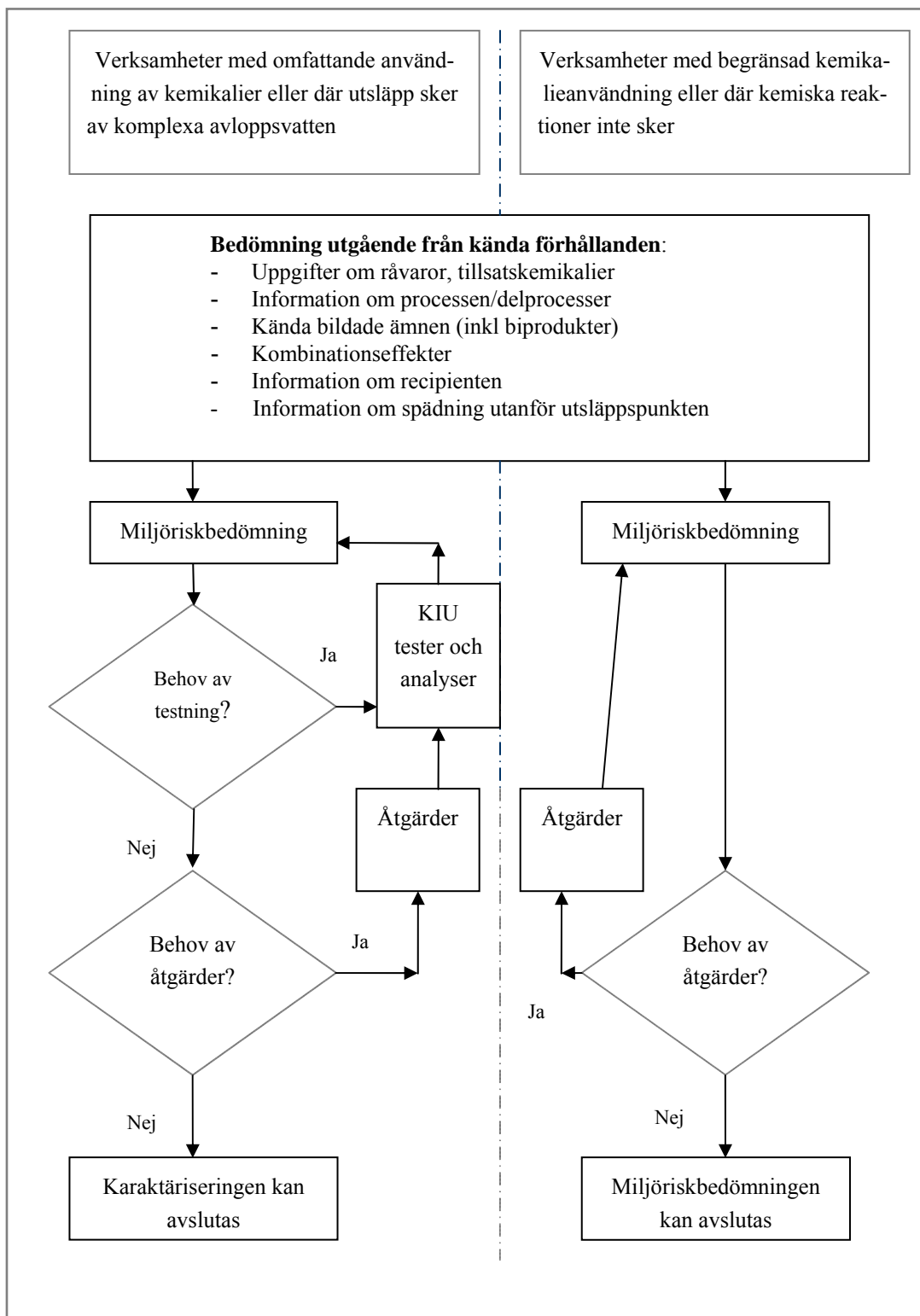
- Processer som endast delvis är kända avseende biproduktbildning eller ingående ämnens miljöfarlighet
- Processer vars negativa miljöpåverkan är känd, medan den lokala påverkan i ett givet fall inte är dokumenterad
- Användning eller produktion av ämnen som uppfyller kriterier för miljöfarlighet
- Mängd av sådana ämnen ställd i relation till recipientens känslighet, utspädning osv.

Uppställning av generella mängdgränser är knappast möjlig, utan bedömningen måste utgå från den aktuella utsläppssituationen. För små verksamheter eller industrier med begränsade avloppsutsläpp räcker ofta en begränsad screeningundersökning.

Karakterisering kan bli aktuellt i olika situationer. Det kan vara verksamhetsutövaren själv som inom ramen för egenkontrollansvaret bedömer att en karakterisering behövs (se avsnitt 2.9.1 i Naturvårdsverkets handbok 2001:3 samt Naturvårdsverkets föreskrifter NFS 2000:15). Det kan också vara den operativa tillsynsmyndigheten som ingriper inom ramen för tillsynen (se kapitel 2 i Naturvårdsverkets handbok 2001:4) eller tillståndsmyndigheten inom ramen för tillståndsprövningen (se Naturvårdsverkets handbok 2003:5).

Hur långtgående kraven ska vara måste bedömas i det enskilda fallet och med utgångspunkt från egenkontrollansvaret och bestämmelserna om tillsyn och prövning, men den karakterisering som skall utföras måste skapa ett tillräckligt beslutsunderlag för att avgöra om åtgärder måste genomföras föra att reducera avloppsbelastningen. Bedömningen enligt avsnitt 4 avgör när man har uppnått detta.

De två huvudsakliga arbetssätten följer flödena till vänster eller höger i figur 2.2.
 I avsnitt 3 går vi nu mer detaljerat igenom de olika stegen i dessa flöden.



Figur 2.2 KIU-metodiken

3 KIU – ett förfarande i flera steg

De tidigare allmänna råden betonade genomförande av testningen i upp till tre steg, men framhöll också att det inte alltid är optimalt att gå stegvis tillväga i undersökningen. Och sådan har den praktiska tillämpningen av metodiken blivit, i de flesta fall har man valt en kombination av metoder från dessa tre steg. Uppläggningsen av en undersökning skall ändå vara på enklast möjliga nivå, och med möjlighet att avbryta när tillräcklig information finns.

Kapitel 3 beskriver tre gradvis utökade undersökningsnivåer. Utvärderingen av varje delsteg görs med ledning av miljöriskbedömningen i kapitel 4.

3.1 Hela sekvensen i punktform

- Handla vid behov upp en konsult (ett konsulterande laboratorium) som tar ansvar för provtagning och testning och skriver en rapport.
- Vilka processer eller processteg skall studeras? – Normalt studeras först det samlade utsläppet, men om misstankar riktas mot ett delsteg uppströms kan det vara viktigt att studera det.
- Bestäm provpunkt eller provpunkter – Anläggningen kan ha flera utsläppspunkter.
- Hur lång provperiod behövs? – Alternativt behövs flera perioder, beroende på om produktionen varierar i kampanjer.
- Vilka variabler behöver testas, kan förfarandet förenklas med screeningtester? – Börja enklast möjligt med beredskap att lägga till fler tester beroende på utfall. Avgörande för vad som är ett tillräckligt svar beror i det enskilda fallet på vilket myndighetskrav som ställts.
- Beräkna erforderliga provvolymerna för dessa tester, behövs ytterligare prov för omkörningar eller fördjupningar? Ett konsultlab kan hjälpa till med detta.
- Efter karakteriseringen - bedöm åtgärdsbehov och genomför möjliga och nödvändiga åtgärder. Ett slutsats kan vara att åtgärder inte behövs, men också denna måste motiveras i rapporten.

3.2 Bedömning utgående från kända förhållanden

Den inledande bedömningen utgår från följande kända förhållanden som diskuteras närmare nedan:

- Uppgifter om råvaror och tillsatskemikalier
- Information om processer och delprocesser
- Kända bildade ämnen (inkl bi- och nedbrytningsprodukter)
- Kunskap om utsläpp och avloppsvattens egenskaper
- Kombinationseffekter
- Information om recipienten
- Spädning utanför utsläppspunkten
- Erfarenheter från liknande anläggningar

3.2.1 Uppgifter om råvaror och tillsatskemikalier

Ämnen med egenskaper som kan utgöra en risk för hälsa och miljö enligt gjorda utvärderingar eller erfarenhet (t ex saltlösningar mm) bör redovisas. Att ett ämne är tillåtet att använda förutsätts kontrollerat oberoende av denna handledning. En sådan redovisning skall innehålla information såsom:

- Ämnesnamn inkl CAS-nr
- Årsförbrukning av respektive ämne
- Farokoder och riskfraser för ämnet
- Testresultat och utvärdering med avseende på inneboende egenskaper (farlighet)
- Klassificering av ämnet
- Andel av respektive ämne som bedöms hamna i utsläpp till vatten
- Förekomst av partiklar, flyktighet
- Ämnen som tas upp i REACH:s begränsningslista eller kandidatlista¹¹
- Vattendirektivsämbnen, särskilt prioriterade farliga ämnen¹²
- PBT/vPvB¹³-ämnen
- Potentiella PBT/vPvB-ämnen
- Miljöfarlighet/långtidseffekter (R50 och R50/53)
- Förekomst av kvicksilver, kadmium och bly, även som kemisk förening

Säkerhetsdatabladerna för kemiska produkter har ofta bristfälliga uppgifter om produktens sammansättning och det kan därför krävas separata innehållsdeklarationer från leverantören/tillverkaren. Farliga ämnen redovisas i allmänhet inte om koncentrationen är låg. Emellertid kan sådana ämnen orsaka miljöskador om utsläppet är betydande, även om koncentrationen av ämnet i produkten är ringa. Exempel på uppgifter som ofta saknas är konserverings-

¹¹ Mer underlag ges i avsnitt 7.

¹² Bilaga II i direktiv 2008/105/EG

¹³ Persistenta, Bioackumulerande, Toxiska respektive mycket Persistenta, starkt Bioackumulerande ämnen

medel och komplexbildare i en sammansatt produkt, ämnen som inte når över gränsen för att behöva deklarerars. Företaget bör ta kontakt med leverantörerna av de kemiska produkterna för kompletterande information.

Användning av ämnen med t ex miljöfarlighetsklassificering (se bl.a. CLP-förordningen, Annex 1¹⁴) medför inte automatiskt att avloppsvattnet innebär en ökad miljörisk, men användningen kräver en särskild bedömning i varje enskilt fall. Behandling i ett kommunalt reningsverk får inte medföra att slammet tillförs miljöfarliga ämnen som förhindrar spridning (återföring av näringsämnen).

3.2.2 Kunskap om avloppsvattnets sammansättning och egenskaper

För punktutsläpp (avloppsvatten) är det möjligt och ofta nödvändigt att göra en mer exakt riskbedömning än för diffusa utsläpp (kemikalier från produkter och varor). Det är därvid viktigt att kvantifiera den variation som förekommer tidsmässigt (utsläppets sammansättning) och rumsligt (koncentrationer i recipienten). Dessa data skall ligga till grund för beräkning av den spädningfaktor som används vid beräkning av PEC (se 4.2.4). Om avloppets utspädning är låg krävs kroniska tester. Om den är tillräckligt hög kan det räcka med akuta tester. Om det redan finns ett väl fungerande recipientkontrollprogram så minskar behovet av kroniska tester om detta inte har indikerat några negativa effekter under senare år.

För den inledande bedömningen behövs uppgifter (så långt dessa är kända) om:

- Avloppsvattnets fysikalisk-kemiska egenskaper såsom: flödeskaraktäristik, temperatur, konduktivitet, pH, färg, salthalt, närsalter (kväve- och fosforföreningar).
- Avloppsvattnets (övriga) kemiska och biologiska egenskaper såsom syretärande egenskaper (BOD₇), mängd och koncentration av organiskt material (TOC), uppgifter sedan tidigare om persistens, bioackumulerbarhet och toxicitet.
- Är avloppsflödet tillfälligt, intermittent eller kontinuerligt?
- Finns kunskap om liknande avloppsvatten från andra verksamheter?

Normalt har verksamhetsutövaren god kunskap om vilka mellanprodukter, biprodukter och nedbrytningsprodukter som bildas i tillverkningen. En sådan redovisning skall finnas med i underlaget till karakteriseringen, eftersom tolkningen av resultaten kan underlättas. Är det fråga om många processsteg, eller ett avloppsvatten med bidrag från flera olika processer, så kan det totala antalet ämnen ändå göra bestämning av enskilda ämnen ohanterlig. Ofta kan man dock bestämma halter av ämnen som anses särskilt miljöbelastande med specifik kemisk analys. Detta dataunderlag är viktigt eftersom det oftast är kvantitativt överlägset vad man får fram i en karakterisering och kan utgöra en avgörande kunskap för att bedöma möjlighe-

¹⁴ http://ec.europa.eu/enterprise/sectors/chemicals/files/ghs/w_annex_i_en.doc

ten till avledning till ett kommunalt reningsverk. Har en karakterisering gjorts tidigare ska förändringar som gjorts i processerna sedan dess redovisas.

3.2.3 Information om recipienten

Recipientens egenskaper, bakgrundsvärden för metaller, närsalter, organiska ämnen och suspenderade ämnen samt skyddsvärde (t.ex. som dricksvattentäkt) bör beskrivas. Vattenomsättningen bör mätas eller beräknas. Även vattenområde nedströms bör beaktas, speciellt om utsläppet innehåller stabila ämnen. För rinnande vatten (vattendrag) fastställs högsta och lägsta flöde, medel- och medellågflöde (medelflöde under lågflödesperiod), räknat per vecka eller månad. Särskilt vid utsläpp till mindre vattendrag behöver man vara uppmärksam på möjlig påverkan.

Sker utsläppet till en kommunal dagvattenledning som senare mynnar i ett vattendrag måste ansvaret regleras mellan företag och kommun, liksom när den primära recipienten är ett kommunalt reningsverk. Särskilt nitrifikationen är känslig, och även i ett stort reningsverk har utslagning av denna förekommit, när misstag skett hos industrin. Kombinationen liten industri till stort reningsverk är annars förknippad med liten risk. För ett stort industriavlopp som leds till ett mindre reningsverk är det viktigt med flödesutjämning. Försiktighet bör iakttas när utsläppet innehåller PB-ämnen, dvs. långlivade ämnen som kan ackumuleras i biota. Detta kan leda till koncentring i näringskedjorna oavsett vilken spädning som sker av utsläppet.

En första beräkning av avloppsplymens spridning och utspädning i recipienten görs med hjälp av kända uppgifter om strömningsförhållanden och utsläppsdata. Beräkning görs dels av det primära spädningsområdet närmast utsläppspunkten, dels av ett större område inom vilket det finns potentiell risk för påverkan. Detta kan innebära ett helt avrinningsområde i särskilda fall. I KIU-arbetet förordas enklast möjliga bedömning, baserad på volymförhållanden i första hand.

3.3 Karakterisering av komplexa avlopp

3.3.1 Inledande undersökningar

För att ge en uppfattning om den dygnsmässiga variationen gör man ett mindre antal enkla tester (tabell 3.2, 3.3.3.1) på dygnsprover, innan dessa blandas flödesproportionellt för det mer omfattande analysprogrammet. (se 3.3.3.2 och följande).

Vilka variabler som bör övervägas i olika steg listas i avsnitt 3.3.3 och samlat i 8.1. Här ingår såväl indirekta mått på mängden organiskt material genom syreförbrukning och totalt kol, som närsalter (kväve- och fosforföreningar), partikulärt material och i förekommande fall olja och metaller. Kemiskt och biologiskt studeras därefter förekomsten av miljöfarliga ämnen som beskrivet tidigare.

Kännedom om funktionella grupper som finns hos många ämnen (amino-, fenol-, karboxylgrupper etc.) kan vara klagörande eftersom de i hög grad bestämmer den

kemiska reaktiviteten. Vissa grupper är joniserbara vilket bland annat innebär att vattenlösligheten kan förändras drastiskt även vid måttliga förskjutningar av vattnets pH.

Eventuell förekomst av metaller i ett avloppsvatten är i regel lättare att förutsäga och karakterisera än av organiska ämnen. Analyser utförs med etablerad standardteknik när man har anledning misstänka att metaller förekommer i halter som kan ge toxiska effekter eller på annat sätt vara av ekologisk betydelse.

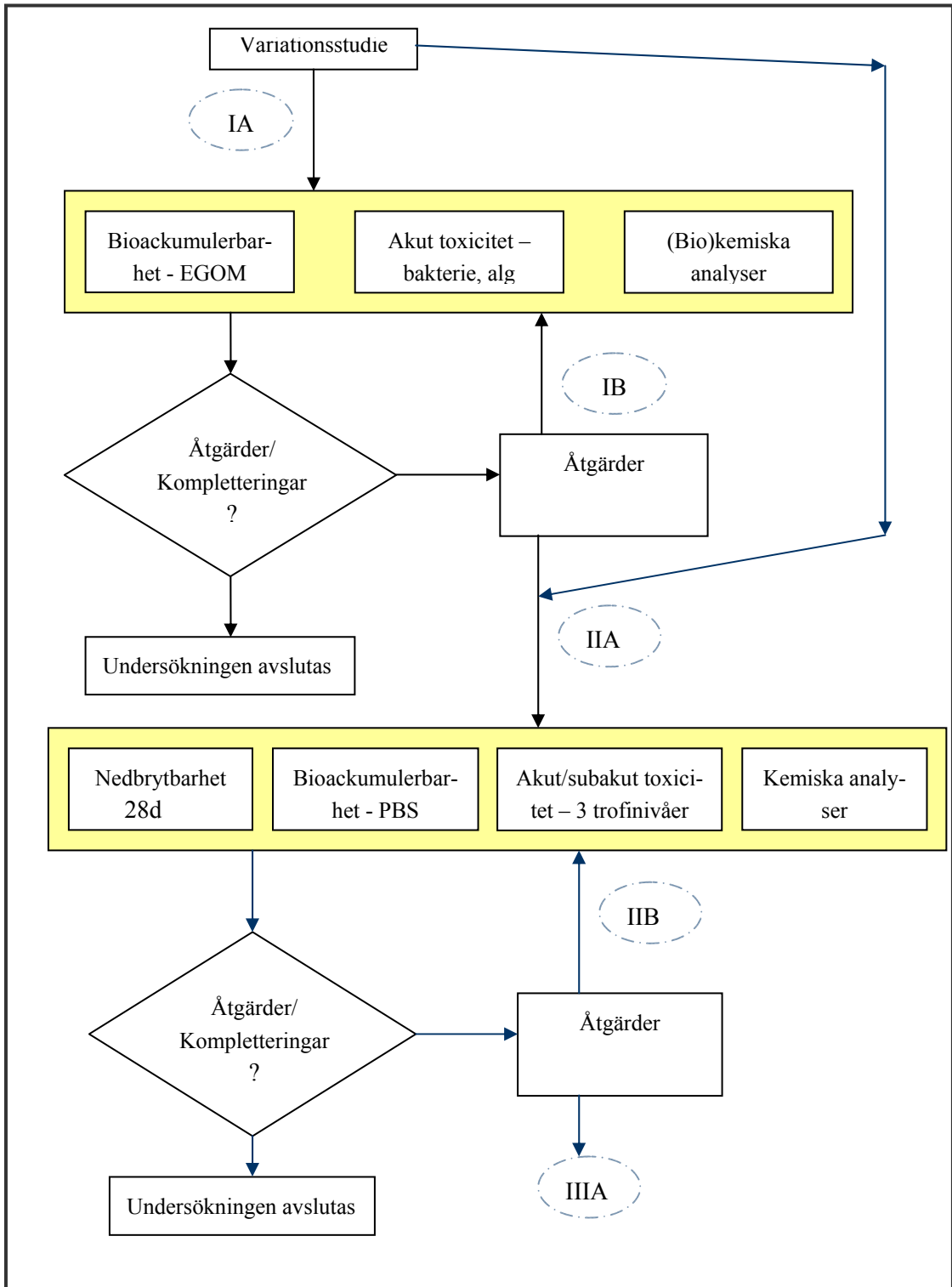
3.3.2 Testsekvenser

Den grundläggande testsekvensen undersöker bioackumulerbarhet och toxicitet efter ett nedbrytbarhetstest, dvs. i den persistenta fraktionen. Men eftersom detta steg (nedbrytningssteget) har vissa nackdelar kan man överväga att testa det obehandlade provet. Bland annat tar nedbrytningstestet minst 7 men typiskt 28 dygn (eller mer), dvs. en snabb analys är inte möjlig. Men testet innebär också att provet förändras genom utspädning för att nedbrytningen alls skall vara möjlig, genom tillsats av buffrande salter för att pH-förändringen inte i förtid skall stoppa processen, osv. Detta innebär att fel kan introduceras och känsligheten i följande test kan minska. Samtidigt kan nedbrytningsprocessen leda till bildning av toxiska nedbrytningsprodukter, som missas om detta steg inte inkluderas.

Man kan försöka hantera detta dilemma genom att först studera akut och kronisk toxicitet och bioackumulering utan föregående nedbrytning, och i ett andra steg upprepa dessa efter ett nedbrytningstest (IA följt av IIA i figur 3.1). Om alla tester är på en godtagbar nivå kan istället undersökningen avslutas efter det första steget. I första hand kan man i ett andra steg (efter nedbrytbarhetstestet) upprepa de test som visade störst känslighet i det första steget, för att avgöra om effekterna är persistenta. Risk för att man missar toxiska nedbrytningsprodukter finns om man väljer ett sådant reducerat sållningstest. Normalfallet är därför ett fulligare test IIA. I båda fallen kan kompletteringar (IB, IIB) behövas, alternativt fördjupade studier (IIIA). Programmen går igenom i 3.3.3. Om effekter kvarstår efter åtgärder bör man överväga förfinade/mer avancerade metoder.

En fullständig analys innebär att kemiska eller fysikaliska bestämningar, toxicitet och bioackumulerbarhet utförs både före och efter ett nedbrytbarhetstest.

Kostnaden för olika programomfattningar har efterfrågats, och det är förstås en variabel av betydelse. Kostnaden för en enskild bestämning varierar dock beroende på hur många prover som kan köras samtidigt eller i serie. Vi har valt att inte ta upp detta i den här upplagan.



Figur 3.1: De grundläggande stegen i en KIU-undersökning, screening (I) och normal-KIU (II)

3.3.3 Testprogram

Ett program för karakterisering byggs upp av en kombination av kemiska och biologiska tester, de senare i första hand tester av tillväxt och reproduktion och i andra hand biokemiska tester kopplade till leverfunktion, blodbild, m.m. En princip är att börja enkelt, men den måste vägas mot kostnader att sätta upp och kalibrera en analys. Ofta är det gynnsamt att köra fler beställningar i serie, och kanske därvid göra någon analys i onödan.

Karakteriseringen ska leda till en miljöriskanalys i första hand med avseende på nedbrytbarhet, bioackumulerbarhet och toxicitet. Beroende på vilka ämnen som förekommer i avloppsvattnet (om de är kända), så kan behovet av att utföra nya biologiska tester variera med hänsyn till vad som redan är känt om ämnenas biologiska egenskaper. Ju färre biologiska tester för toxicitet man har att utgå ifrån, desto större säkerhetsfaktorer måste man införa i riskbedömningen (se 4.2.3).

Standardmetoder för provtagning, metoder och test listas i avsnitt 5. För att göra framställningen läsligare ges inga metodreferenser i denna del. En bruttolista över tester och analyser finns i avsnitt 8.1 och standarder i 8.2. Analys av enskilda ämnen skall såvitt möjligt ske med standardiserad metod, och laboratoriet skall vara ackrediterat att utföra analysen. Korta metodbeskrivningar för PBT-testningen ges i avsnitt 5. Vilken provmängd som erfordras bestäms av vilka tester som planeras, med säkerhetsmarginal för ev. omkörningar och kompletteringar, se tabell 5.1.

I de flesta fall behöver undersökningen inledas med en variationsstudie.

3.3.3.1 VARIATIONSSTUDIE

Under en typisk produktionsvecka (eller annan relevant period) kan start- och stoppsekvenser, med utrustningsrengöring, m.m. göra att utsläppet varierar från dygn till dygn, även om samma processer körs. På dygnsprover görs därför en variationsstudie med avseende på testerna i tabell 3.1.

Syftet är att med enkla tester beskriva variationen i proverna under provtagningsperioden, för att förhoppningsvis visa att de är jämna. Resultaten skall också kunna användas för att skatta tidsmässig variation under ett produktionsår. Flödesbestämningen behövs för att göra ett flödesproportionellt prov för den följande mer omfattande undersökningen.

Tabell 3.1 Variationsstudie

Kemiska/fysikaliska analyser	Toxicitet
Flöde	
pH	
Konduktivitet	
Suspenderade ämnen	
TOC	Hämning av luminiserande bakterier (<i>Vibrio fischeri</i>)

3.3.3.2 STEG IA – SCREENING

Målsättningen med det första steget är att enkelt avgöra om utsläppet är miljöfarligt och behöver behandlas. Metodschemat är tillräckligt begränsat för att kunna användas också i små industrier. Metodstandarder listas för de grundläggande kemiska analyserna och biologiska testerna i referensavsnittet 8.2.

Nedbrytbarhet. BOD₇ används som indikator för om det finns biologiskt nedbrytbart material. Mängden bör vara försumbar om anläggningen har en egen rätt dimensionerad biorening. Analysen ger inte besked om hur mycket persistent material som finns i provet.

BOD ₇

Bioackumulerbarhet. Screeningmetoden är EGOM.

EGOM

Biologiska effekter. Akut toxicitet undersöks på två organismgrupper, i första hand bakterier och alger:

Bakterier, luminiscenshämning

Alger, tillväxthämning

Trofinivå	Sötvatten	Brackvatten	Saltvatten
Bakterier	<i>Vibrio fischeri</i> ^a	<i>Vibrio fischeri</i>	<i>Vibrio fischeri</i>
Alger	<i>Raphidocoeles subcapitata</i>	<i>Phaeodactylum tricornutum</i> <i>Skeletonema costatum</i> <i>Ceramium tenuicorne</i>	<i>Phaeodactylum tricornutum</i> <i>Skeletonema costatum</i> <i>Ceramium tenuicorne</i>

^a Testet utförs i 20 ppt salthalt, egentligen inte en sötvattensmetod

När recipienten är ett externt reningsverk kompletteras med hämningstester:

Respirationshämning av slamorganismer (reningsverksslam)
--

Nitrifikationshämning av slamorganismer

Kemisk karakterisering

pH: extrema pH måste buffras för nedbrytningstest och andra biotester.

Konduktivitet: Hög salthalt hämmar biologin i reningsverk eller vid utsläppspunkten.

Suspenderade ämnen kan endast bestämmas på ofryst prov och ger inte användbar information efter biologisk stabilisering.

Analys av branschtypiska ämnen är den branschanpassning som kan göras i denna generella metodik.

pH
Konduktivitet
Suspenderade ämnen (partiklar)
(BOD)
TOC
DOC
Kväve- och fosforföreningar (närsalter)
<i>Tillägg:</i>
Kända branschtypiska ämnen som bedöms kunna ha PBT-karaktär
<i>Beroende på förekomst:</i>
Metaller
Oljeindex
AOX eller EOX

3.3.3.3 STEG IB. KOMPLETTERANDE ANALYSER

Om karakteriseringen ger anledning att överväga åtgärder skall också spädningszonen bedömas, i enlighet med 4.1.1, dvs. finns anledning att studera spädningszon, är utsläppet trots allt trivialt, osv.

Komplettering av screeningschemat beror av vilka oklarheter som återstår, hög EGOM bör medföra en PBS-bestämning, t.ex. Efter åtgärder prövas normalt samma variabler eller test som givit utslag tidigare för att kontrollera om resultatet förbättrats. Om resultatet ger en tydlig riskindikation bör komplettering ske till steg IIA. Höga utslag i P- och B-analyserna motiverar att man går vidare till mer omfattande toxicitetsbestämningar i steg II.

3.3.3.4 STEG IIA. NORMAL KIU

Detta är den nivå som blivit standard i KIU-undersökningar. Genomförs den utan föregående steg I behöver analyser och tester som i steg I ingå. Provtagning och variationsstudie genomförs som i 3.3.3.1.

Nedbrytbarhet. Biokemisk nedbrytning följs genom analys av DOC ("die away") vid utsläpp till ytvatten eller Zahn-Wellens metod vid utsläpp till reningsverk. Analys av bioackumulering, biologiska effekter och kemisk sammansättning görs före P-testet och också efter, om det inte kan visas att det är överflödigt. Test av respirationshämning avgör om provet behöver spädas före nedbrytningstestet.

BOD ₇
Respirationshämmning av slamorganismer (reningsverksslam)
Aerob stabilisering (dvs. aerobt nedbrytningstest)

Bioackumulerbarhet. Normalt görs full PBS, men ett EGOM-steg kan inleda för kontroll av om full analys är nödvändig.

EGOM
Potentiell bioackumulerbarhet

Biologiska effekter. Testerna i steg Ia kompletteras till tre trofinivåer, bl.a.

Bakterier, luminiscenshämmning
Alger, tillväxthämning
Kräftdjur, fortplantning
Fisk, överlevnad, ägg - yngel
Nitrifikationshämmning av slamorganismer

Fysiologi eller morfologi kan studeras med sebrafisk/regnbåge/tånglake, hormonella effekter med spigg eller jäst.

Trofinivå	Sötvatten	Brackvatten	Saltvatten
Bakterier	<i>Vibrio fischeri</i>	<i>Vibrio fischeri</i>	<i>Vibrio fischeri</i>
Alger	<i>Raphidoceles subcapitata</i>	<i>Phaeodactylum tricornutum</i> <i>Skeletonema costatum</i> <i>Ceramium tenuicorne</i>	<i>Phaeodactylum tricornutum</i> <i>Skeletonema costatum</i> <i>Ceramium tenuicorne</i>
Kräftdjur	<i>Daphnia magna</i> <i>Ceriodaphnia dubia</i>	<i>Nitocra spinipes</i>	<i>Nitocra spinipes</i>
Fisk	Sebrafisk Regnbåge Spigg	Abborre Tånglake Spigg	Tånglake Spigg

Kemiska och fysikaliska analyser.

Konduktivitet
pH
TOC
Suspenderade ämnen
Totalfosfor, total fosfat
Totalkväve, ammoniumkväve
AOX, EOX, oljeindex
Metaller: Hg, Cd, Cu, Ni, Pb, Cr, Cr(VI), Zn, Ag
Processanpassade analyser

3.3.3.5 STEG IIB

Den första provomgången, med förhållandevis enkla analyser (även om flexibiliteten här måste vara stor) ger ibland inte ett tydligt utslag. Ytterligare analyser kan då beställas. Alternativt har analyserna indikerat att en eller flera delströmmar från produktionen står för störningar, och om inte det underlaget räcker för åtgärder kan det vara motiverat att upprepa eller utöka analys och test av delströmmar.

I det utökade testschemat undersöks subletala effekter vid längre exponering för fastställande av nolleffektnivån (NOEC). Biotesterna utförs i första hand med de organismer som visat störst känslighet i det första steget.

Om resultaten motiverar åtgärder bör tester med stor signifikans upprepas när dessa är gjorda. Alternativt behöver en toxisk inventering av delströmmar göras för att möjliggöra en åtgärdsanalys. De tester som givit utslag utnyttjas för detta.

Oavsett åtgärder motiverar närvaro av större mängder bioackumulerbara ämnen, liksom av persistenta fraktioner, att långtidstest genomförs med den organism som givit lägst EC50-värde.

Ytterligare arter att överväga för biologiska effektundersökningar är

Högre växter, tillväxthämning
Musslor, överlevnad av larver
Gentoxicitet, umu-test

Kompletterande kemisk analys kan också behövas.

3.3.3.6 STEG IIIA

Om ytterligare undersökning behövs efter det andra steget bör dessa studier knytas till recipienten för att öka realismen:

Nedbrytbarhet. Avgörande för om svårnedbrytbara ämnen är ett problem i recipienten görs med simuleringstest (bl.a. OECD Guidelines test 309, 314D^{15,16}).

Bioackumulering. Biokoncentreringsförsök med avseende på identifierade eller misstänkta ämnen görs med organismer i lab eller burutsatta. Bl.a. kan fisk som regnbåge eller abborre komma ifråga.

Biologiska effekter. Subkroniska test på kräftdjur och fisk med studium av effekter på suborganismnivå.

¹⁵ OECD(2004). OECD guideline for the testing of chemicals. Aerobic mineralisation in surface water – simulation biodegradation test. No. 309

¹⁶ OECD(2008). OECD guideline for the testing of chemicals. Simulation tests to assess the biodegradability of chemicals discharged in wastewater. No. 314

Subkronisk eller kronisk toxicitet kräftdjur ^a
Kronisk toxicitet fisk
Flergenerationstest fisk ¹⁷
Tillväxt, kondition fisk
Könsmognad fisk
Leverfunktion fisk
Endokrin störning jäst eller fisk
Immunförsvar fisk
Patologi, hematologi fisk

^a Subkroniskt larvutvecklingstest med *Nitocra* har visats ofta vara lika känsligt som ett kroniskt livscykeltest

Trofinivå	Sötvatten	Brackvatten	Saltvatten
Kräftdjur	<i>Daphnia magna</i> <i>Ceriodaphnia dubia</i>	<i>Nitocra spinipes</i>	<i>Nitocra spinipes</i>
Fisk	Sebrafisk Regnbåge Spigg	Abborre Tånglake Spigg	Tånglake Spigg

3.3.3.7 STEG IIIB

Någon gång behöver man gå längre och kan då studera fysiologiska effekter i långtidstest på kräftdjur som *Nitocra* och fisk som sebrafisk.

Ytterligare undersökningar knyts vid behov till vildfångade eller burutsatta organismer i recipienten. Närmare vägledning för detta arbete ges bland annat i Naturvårdsverkets AR 94:2 och rapport 4695 (1997). Arbetet pågår med att anpassa tolkningsnyckeln för dessa tester till dagens svagare effekter.¹⁸

3.4 Bedömning utgående från enskilda ämnen

För processer med få råvaror eller ingående ämnen kan alltså bedömningen istället grundas på data om dessa ämnen (se figur 2.2). Bedömningen ska göras för de ämnen som till någon del oförändrade bedöms kunna hamna i avloppsvattnet.

I olika sammanhang har upprättats förteckningar eller sökverktyg för identifiering av miljöfarliga ämnen (mer underlag ges i 7.2 och följande). Några exempel är:

¹⁷ Nya undersökningar visar att flergenerationsförsök, som är mycket resurskrävande och det därför finns begränsad kapacitet för, inte säkert tillför ytterligare kunskap jämfört med en generation: Naturvårdsverket (2009). Utvärdering av biologiska tester gjorda på svenska skogsindustriavlopp 2001 – 2007. Rapport 6304

¹⁸ Å. Larsson, personlig kontakt 2010

- Kemikalieinspektionens prioriteringsguide listar CMR-ämnen (cancerogena, mutagena eller reproduktionstoxiska), PBT- och vPvB-ämnen samt s.k. riskminskningsämnena som klassificeras med koderna R53 eller R50/53. Guiden tar också upp metallerna kvicksilver, kadmium och bly och deras föreningar – www.kemi.se¹⁹. Eventuella andra ämnen som uppfyller PRIO-verktygets kriterier (7.3.3).
- Vattendirektivet (2000/60/EG) har f.n. valt ut 33 ämnen som prioriterade (tabell 7.2), och därutöver listat ytterligare 8 förorenande ämnen.
- REACH begränsnings- eller kandidatlistor.
- Det finns fler negativlistor att överväga.

¹⁹ När detta skrivs underhålls inte Prio-guiden, men under den fleråriga inkörningen av REACH väntas den ha en roll, oavsett om det senare blir förändringar

4 Miljöriskbedömning, åtgärder och rapportering

Det bör ha framgått av metodurval och frihet att välja analysupplägg att det inte finns någon enkel och enhetlig tolkningsmall. Men även om bedömningen är individuell så kan ändå vissa mönster följas, när man skall bedöma resultaten från en karakterisering.

Att inte vattendirektivets normer för god kemisk status (KS) eller ekologisk status (ES) överskrids som ett resultat av utsläppet skall kontrolleras i enlighet med vägledning som lämnas för det direktivet (Direktiv 2000/60/EG, bilaga V, och dotterdirektivet 2008/105/EG).

4.1 Sällningstest (Steg I)

I STORK-projektet utvecklades en modell som gällde för låga flöden och därmed kanske i första hand för mindre industrier²⁰. En avsikt var att begränsa spädningszonens storlek, utan att närmare beräkna hur stor den var. Utspädningen antas vara minst 20x, och med utgångspunkt från vad som uppskattades vara vanliga bakgrundshalter i recipienten kan då krav ställas på utgående avloppsvatten som i tabell 4.1. Om kravet inte klaras, så bör ytterligare utredning genomföras.

Med ledning av Naturvårdsverkets rapport 4920²¹ kan god status för totalfosfor sättas till under 12,5 µg/l, 10 µg/l ger med dessa förutsättningar värdet i tabellen. N/P i balans angavs i samma källa till 15 – 30. Mätvärden över dessa gränser ansågs i projektet motivera fördjupad analys. Värden för syntetiska förorenande ämnen skall enligt Naturvårdsverkets handbok 2007:4²² sättas vid detektionsgränsen. Tabellen tar bara upp vanliga miljövariabler, men kan antas ligga nära detta krav.

Bedömning av risken för påverkan direkt vid utsläppspunkten utan hänsyn till spädningszon i recipienten är lämplig för den enklaste screeningnivån (sällningsnivån) av KIU-undersökning, och kan också användas som en första bedömning av resultaten i en IIA-undersökning.

²⁰ Naturvårdsverket (1996). Karakterisering av utsläpp från kemiindustrin. STORK-projektet. Rapport 4621

²¹ Naturvårdsverket (1999). Bedömningsgrunder för miljö kvalitet. Sjöar och vattendrag. Bakgrundsrapport 1, kemiska och fysikaliska parametrar. Rapport 4920

²² Naturvårdsverket (2007). Status, potential och kvalitetskrav för sjöar, vattendrag, kustvatten och vatten i övergångszon. Handbok 2007:4

Tabell 4.1 Gränsvärden för utgående avloppsvatten

	Utgående avlopp [mg/l]	Utgående avlopp [kg/d]
BOD₇	80	8
TOC, DOC	100	10
AOX	1,0	0,1
PBS^a	0,5	0,05
Tot N	15	
Tot P	1	
	[vol-%]	
Akut toxicitet, EC50^b	100	

^a Om EGOM < 0,05 kg/d behöver PBS inte bestämmas

^b Om EC50 < 100 utför PEC/PNEC-analys

Dessa värden ger en utgångspunkt vid bedömning av industriutsläpp, lägre utsläpp ger i allmänhet försumbar påverkan. Om testsekvensen steg IA – åtgärder – steg IB inte resulterar i ett godtagbart utsläpp behöver analysen utvidgas till steg IIA och utvärderingen fördjupas med en PEC/PNEC-analys (4.2.3).

4.1.1 Spridningsberäkning, blandnings- eller spädningszoner

Det finns motiv för att avstå från att räkna på spädningen. I en typisk utsläppssituation är recipientvattnet redan förorenat av andra källor, och lösningen har hittills varit att kräva bästa teknik i utsläppspunkten. Ett utsläpp antages därvid uppfylla de krav på BAT som gäller för sektorn, och därmed vara bedömt med avseende på möjligheter och behov att ytterligare reducera eller eliminera dess föroreningar inom ramen för vad som är tekniskt och ekonomiskt möjligt.

I dotterdirektivet 2008/105/EG (bilaga IA, se 7.4) till vattendirektivet finns möjligheten att fastställa blandningszoner för de 33 prioriterade ämnena, varför ett överslag kan behöva göras eller finnas refererat också i en KIU-undersökning. I blandningszonen får klassgränsen (se 7.4) överskridas och ett EU-vägledningsdokument håller nu på att tas fram.²³ Eftersom spädningszonen har två delar (4.2.4.1) svarande mot akuta respektive kroniska effekter bibehålls begreppet spädningszon för KIU.

²³ EU EQSD CIS (Draft March 2010). Common implementation strategy guidance on setting mixing zones under the EQS Directive (2008/105/EC)

Vägledningen för bedömning av blandningszoner ställer ett antal frågor som stöd för avgörande av hur långt beräkningen skall drivas. Detta kan vara en bra utgångspunkt också för bedömningen i KIU-arbetet:

- Är överträdelsen av klassgränsen lokal kring den enskilda utsläppspunkten?
- Är överträdelsen proportionerlig med tanke på de villkor som ställs på utsläppet med hänsyn tagen till bästa teknik?
- Innebär överträdelsen att god kemisk status i recipienten inte kan uppnås?
- Motsvarande ställningstagande för god ekologisk status.
- Är handläggningen konsekvent med hänsyn till krav som ställs på andra punktutsläpp?

4.1.1.1 UTSLÄPP TILL VATTENDRAG

ECHA:s vägledning²⁴ anger att koncentrationen av föroreningar ska beräknas när avloppsvattnet är helt uppblandat med recipientflödet, dvs. volymsflödena V_{avlopp} m³/min för avloppet och $V_{recipient}$ m³/min för recipienten ska vara helt uppblandade med varandra. Som en första approximation antas flyktighet, nedbrytning och sedimentering vara försumbara, eftersom uppblandningstiden är kort.

4.1.1.2 UTSLÄPP TILL SJÖ ELLER HAV

Beroende på hur strömmar går i recipienten kan plymen hållas samman mer eller mindre långt. I praktiken motverkar man det genom att ”utsläppspunkten” sträcks ut över botten till exempel i en perforerad tub. Förloppet kommer att variera med temperaturen under året, i allmänhet kan antas att avloppsvattnet är varmare än sjövattnet, medan avloppsvattnets täthet ofta kan antas lägre än sjövattnet, och spridningen därmed sker uppåt från utsläppstuben. Om vattnet är mycket förorenat kan det tvärtom vara tyngre än recipientens och då ligger plymen närmare botten och utspädningen kan ta längre tid.

För KIU rekommenderas tills vidare att BAT-krav skall uppfyllas i utsläppspunkten. Om volymen i recipientens spädningsområde går att skatta kan förstås en spädningsbedömning göras (se 4.2.4.2).

4.2 Utvidgad miljöriskbedömning

4.2.1 Persistens

Nedbrytbarheten avgör hur långvarig kontakten med den omgivande miljön blir för ett ämne. Toxiska ämnen som är svårnedbrytbara kommer att sprida sin toxicitet över större områden än ett lättnedbrytbart ämne. Även om inga andra skadliga miljöegenskaper har påvisats bör därför ämnen som inte är lätt nedbrytbara betraktas som potentiellt miljöfarliga.

²⁴ ECHA (2008e). Guidance on information requirements and chemical safety assessment, ch. R16. Environmental exposure estimation

Tester för bestämning av nedbrytbarheten av enskilda ämnen är väl utvecklade och redovisas i avsnitt 5. Det är däremot inte möjligt att sätta upp säkra kriterier för nedbrytbarhet av föroreningar i komplexa vatten. OECD-testet för lätt nedbrytbarhet av ett enskilt ämne sätter kravgränsen till 70 %, men detta kan förstås lämna upp till 30 % svårnedbrutet i en blandning av ämnen. I STORK-undersökningarna²⁵ sattes kravet till 80 %, men säkerhet för ett avloppsvatten nås knappast förän en mängd betydligt närmare 100 % kan redovisas.

4.2.2 Bioackumulering

Upptag direkt från vatten är biokoncentrering, upptag via näringskedjan biomagnifiering. Som kriterium för möjlig bioackumulerbarhet har angivits $BCF_{\text{fisk}} \geq 100$, bl.a. i de tidigare Allmänna Råden.

Det har emellertid visats att oktanol/vattenfördelningen (koefficienten K_{ow}) för ett ämne är en god ersättning för att avgöra bioackumuleringspotentialen, med gränsen $\log K_{ow} > 3$ för potentiell bioackumulerbarhet (dvs. ungefär svarande mot $BCF_{\text{fisk}} \geq 100$). Upp till $\log K_{ow} = 6$ är förhållandet linjärt mellan logaritmerna för koefficienten och BCF, men för mer hydrofoba substanser sjunker BCF-värdena och en noggrann bedömning av ingående ämnen bör ske.

Oktanolen simulerar föroreningens lipofila egenskaper, medan andra grunder för en attraktion inte tas med. Stor försiktighet med att ”fria” ett prov av komplext ursprung är nödvändig. BCF för komplexa prover finns förstås inte tabellerade, utan får mätas²⁶. Ett publicerat linjärt samband är

$$\text{Log } BCF_{\text{fisk}} = 0,85 \log K_{ow} - 0,70$$

för $\log K_{ow} = 2 - 6$, medan ett andragsuttryck kunde härledas för högre koefficientvärden²⁷. Det finns inga internationellt accepterade gränsvärden för hur mycket potentiellt bioackumulerande material som får släppas ut. I den svenska STORK-undersökningen sattes alltså gränsen till 0,5 mg/l (mätt som C_{20}) i avloppsvatten, eller högst 0,05 kg/d vid tillämpning på små avloppsflöden ($\leq 100 \text{ m}^3/\text{d}$, tabell 4.1). Större flöden som är jämviktade mot ett reningsverksslam kan föra ut lipofila, potentiellt bioackumulerande ämnen, varför också en mängdgräns behövs i bedömningen.

²⁵ Naturvårdsverket (1996). Karakterisering av utsläpp från kemiindustrin. STORK-projektet. Rapport 4621

²⁶ OECD (1996). Guidelines for testing of chemicals, no. 305, Bioconcentration flow-through fish test.

²⁷ Veith, G D, Defo, D L & Bergstedt, B V (1979). Measuring and estimating the bioconcentration factor in fish. J Fish. Board Can. 36, 1040 - 1048

4.2.3 Toxicitet

Det är vedertaget att det existerar en nedre koncentrationsgräns för kemiska ämnen (andra än cancerogena eller endokrina) och komplexa avloppsvatten under vilken hämmande effekter inte uppstår på arter eller ekosystem (eller i varje fall inte kan detekteras). Detta tröskelvärde kallas för ”nolleffektskoncentrationen” (NEC). Det uppstår med andra ord inte ekotoxikologiska effekter från kemiska ämnen eller avloppsvatten om deras koncentration (C) inte överstiger tröskelkoncentrationen enligt:

$$C/NEC < 1 \text{ (ingen miljöskadlig effekt)}$$

Vanligtvis är varken NEC eller C kända, och det är därför nödvändigt att beräkna dessa koncentrationer så att riskanalysen kan grundas på så sannolika värden som möjligt. De beräknade koncentrationerna kallas för PNEC (Predicted No Effect Concentration) respektive PEC (Predicted Environmental Concentration), alltså den bedömda koncentrationen av avloppsvattnet som inte ger oacceptabla skador respektive bedömd eller uppmätt koncentration av avloppsvattnet i vattenmiljön. Kvoten ovan kan då approximeras med

$$PEC/PNEC < 1 \text{ (ingen förväntad ekotoxikologisk effekt)}$$

PNEC bestäms med hjälp av effektuppgifter med i första hand laboratorieundersökningar som utgångspunkt. Effektuppgifterna är normalt antingen effektkoncentrationer, som oftast utgörs av medianvärden (EC50- eller LC50-värden) eller av den högsta koncentrationen som inte leder till observerbara (hämmande) effekter, NOEC-värden (No Observable Effect Concentration).

I såväl laboratorie- som recipientundersökningar studeras effekter på ett urval av arter. För att PNEC-värdet ska kunna vara tillämpligt på så många organismer som möjligt i ett ekosystem, så appliceras säkerhetsfaktorer på erhållna resultat. Säkerhetsfaktorerna tar hänsyn till olikheter i känslighet mellan individer av samma art, mellan trofinivåer, variationer i avloppsvattnets toxicitet och resultatens kvalitet. Här påverkar också faktorer som extrapolation mellan akut och kronisk toxicitet och skillnader mellan laboratorie- och fältmiljö. Underlag för val av säkerhetsfaktorer och vägledning för beräkning av PNEC och PEC ges i avsnitt 4.2.3.1 och följande, respektive 4.2.4.

Om avloppsvattnet visats ha hög halt bioackumulerbara föroreningar kan det vara vanskligt att värdera PEC, och osäkerheten i beräkningen ökar.

4.2.3.1 SÄKERHETSFAKTORER

Miljöriskanalysens syfte är att skapa ett skydd för vattenmiljön, och däri inräknas avloppsreningsverk, när ett sådant är den primära recipienten. Den innebär att korttidstester med enstaka arter används för extrapolering till effekter på ekosystemnivå. Det antas att ekosystemets känslighet beror på den mest känsliga arten och att

skyddet av enskilda ekosystems struktur skyddar på samhällsnivå i vattenmiljön. Det är då möjligt att effektivt skydda vattenmiljön och även förhindra obalans i enskilda ekosystem genom att skydda den mest känsliga arten.

Det är inte möjligt att för varje enskilt avloppsvatten avgöra vilken art som är mest känslig och därför behöver man använda sig av säkerhetsfaktorer (eng. assessment factor, och därför förekommer också benämningen bedömningsfaktor, liksom osäkerhetsfaktor, eftersom användningen bottnar i osäkerhet) när man extrapolerar data från laboratorieförsök. Säkerhetsfaktorer används i riskanalyser för bedömning av bekämpningsmedel, läkemedel, livsmedelstillsatser, arbetarskydd etc. EU, OECD och USEPA (US Environmental Protection Agency) rekommenderar att säkerhetsfaktorer används även för miljöriskbedömningar. Säkerhetsfaktorerna grundas på erfarenhet som anses balansera den vetenskapliga validiteten på ett tillfredsställande sätt.

Med användningen av säkerhetsfaktorer skall man kunna beräkna en koncentration av avloppsvattnet under vilken oacceptabel toxisk påverkan på vattenmiljön inte uppkommer. Säkerhetsfaktorernas storlek beror på flera faktorer som:

- skillnader mellan arter
- individskillnader inom arten
- variationer mellan laboratorier
- osäkerhet vid extrapolering från akut till kronisk toxicitet
- osäkerhet vid extrapolering från laboratorieförsök till fältförsök

Ju större testunderlaget är, desto bättre blir riskanalysen. Detta innebär att säkerhetsfaktorerna kan minskas om man utför tester på flera arter från olika livsformer och på flera trofnivåer, t.ex. primärproducenter som alger, sekundära som kräftdjur och fisk. Därmed ökar miljöriskanalysens tillförlitlighet. Säkerhetsfaktorernas storlek är inte absolut utan ska användas som vägledande hjälpmedel i riskanalysen. Om ämnen med särskilda eller avvikande egenskaper är avgörande för avloppsvattnets egenskaper, så kan både större och mindre säkerhetsfaktorer användas beroende på kunskapen om dessa ämnens toxicitet.

4.2.3.2 BERÄKNING AV PNEC FÖR AVLOPPSPROVER, UTSLÄPP TILL VATTEN

PNEC bestäms med hjälp av ekotoxikologiska tester på representativa samlingsprov av avloppsvatten. Om avloppsvattnets kvalitet varierar kraftigt under en längre tid kan det vara lämpligt att testa mer än ett representativt samlingsprov.

Det finns inga fastställda säkerhetsfaktorer för utsläpp av avloppsvatten. De faktorer som föreslås i tabell 4.2 är lägre (ungefär en tiondel) än motsvarande för enskilda ämnen (tabell 4.4), och det beror på erfarenheten att skillnaderna i effekter mellan olika trofnivåer är lägre för komplexa avloppsvatten än vid testning av enskil-

da ämnen.^{28,29} Detta står i motsats till erfarenheten att olika ämnens effektpåverkan oftast är additiva, dvs. faktorerna för enskilda ämnen (tabell 4.4) borde också kunna användas för den komplexa blandningen. CLP-förordningen ((EG) nr 1272/2008), Annex 1, beskriver en summeringsmodell för akuta testdata för blandningar. För kroniska data är den modellen inte användbar på grund av varierande nedbrytbarhet hos föreningarna. En mer konservativ tolkning av underlag för beräkning av $PNEC_{avlopp}$ är därför att använda tabell 4.4.

$$PNEC = [\text{underlag (t.ex. lägsta EC50)}/\text{säkerhetsfaktor [ml/l]}]$$

Tabell 4.2. Förslag på säkerhetsfaktorer vid bestämning av $PNEC_{avlopp}$

Underlag	Säkerhetsfaktor
EC(LC)50 från enbart test med bakterieluminiscens	1000
(Lägsta) EC(LC)50 från minst ett korttidstest med alger, kräftdjur eller fisk	100
Lägsta EC(LC)50 från akuttoxtest på tre trofinivåer med minst en algart, en kräftdjursart och en fiskart	10
Lägsta EC10 eller NOEC från minst tre långtids toxtester med alg, kräftdjur och fisk	5

För korttidstester utgår man i första hand från medianvärden, dvs. de koncentrationer som ger effekt i halva testmaterialet. LC50 och EC50 är exempel på sådana värden.

I långtidsförsök används i första hand NOEC-värdet. Hämmningstestet för algtillväxt är ett flergenerationstest som både kan användas som korttidstest och långtidstest i riskanalysen. Under förutsättning att alger är den känsligaste trofinivån kan NOEC-värde från tillväxthämmningstestet användas om NOEC bestämts med erforderlig noggrannhet.

4.2.3.3 BERÄKNING AV $PNEC_{RENINGSVERK}$ FÖR AVLOPPSPROVER

I de fall där industriutsläppet avleds till avloppsreningsverk, ska även risken för skadliga effekter på reningsverkets funktion bedömas. För ändamålet utnyttjas tester med organismer från biologiska reningssteg, t.ex. slam från en aktivslamläggning.

Bakterieluminiscens och hämmningstester för algtillväxt kan inte användas för att bedöma risken för toxiska effekter på slamorganismer, då dessa testorganismer har låg relevans för reningsverksmiljön (ECHA 2008c).

²⁸ Miljøstyrelsen (1994). Industrispildevands miljøfarlighed. Miljøprojekt nr 260

²⁹ Thomas Olsson (2006), personlig kontakt

Tabell 4.3. Säkerhetsfaktorer för beräkning av $PNEC_{\text{reningsverk}}$ med icke adapterat slam^{*30}

Metod	Säkerhetsfaktor
Respirationshämmning (EC50)	100
Respirationshämmning (NOEC eller EC10)	10
Tillväxthämning för <i>Pseudomonas putida</i> (EC50)	10
Tillväxthämning för <i>Pseudomonas putida</i> (NOEC eller EC10)	1
Nitrifikationshämmning (EC50)	10
Nitrifikationshämmning (NOEC eller EC10)**	1

* Det förekommer att reningsverk utför egna tester eller prövningar på industriutsläpp med adapterat slam. Dessa metoder har tillväxthämning, avdödning eller funktionshämmning som mått. Under förutsättning att dessa studier görs på ett kvalitetsmässigt acceptabelt vis, kan de även användas i beräkningen av PNEC.

** Krav enligt Svenskt Vattens P95³¹ är max 20% hämning vid 20 % inblandning, samt högst 50 % vid 40 % inblandning, dvs. det är motiverat att bestämma EC20 med en säkerhetsfaktor på 5 – 10.

4.2.3.4 MILJÖRISKBEDÖMNING FÖR ENSKILDA ÄMNEN VID UTSLÄPP TILL SÖTVATTEN

Riskbedömningar skall göras över enskilda kemiska ämnen vid utsläpp till sötvatten om de förekommer på vattendirektivets förteckning över särskilt miljöfarliga ämnen (se tabell 7.2), samt om de klassificeras som miljöfarliga eller på annat sätt bedöms ha inneboende egenskaper i fråga om toxicitet, persistens eller bioackumulerbarhet som kan utgöra en allvarlig miljörisk.

Vid framtagande av en lämplig säkerhetsfaktor är ett EC50-värde att jämföra med ett korttidstest. Detta gäller även för tester med tillväxt av alg (egentligen en flergenerationstest). Ett NOEC-värde från ett sådant test kan dock användas som ytterligare ett NOEC-värde när andra långtidstester finns tillgängliga.

Föreningar med hög $\log K_{ow}$ eller ämnen som har långsam metabolisk omvandling kan uppvisa låg korttidstoxicitet. Detta kan också visa sig i långtidstest genom att toxicitetsmättet inte stabiliseras (steady state). I sådana fall bör en högre säkerhetsfaktor övervägas.

³⁰ ECHA (2008c). Guidance on information requirements and chemical safety assessment, ch. R.10: Characterisation of dose (concentration) – response for environment

³¹ Svenskt Vatten (2009). P-95 – Råd vid mottagande av avloppsvatten från industri och annan verksamhet

Tabell 4.4. Säkerhetsfaktorer för beräkning av PNEC_{sötvatten} för enskilda ämnen³²

Tillgängligt underlag	Säkerhetsfaktor*
Lägsta EC(LC)50 från ett korttidstest av minst tre testade trofnivåer (alg, kräftdjur och fisk)	1000
EC10 eller NOEC-värde från långtidstest med kräftdjur eller fisk	100
Lägsta EC10 eller NOEC-värde från två långtidsstudier med fisk och/eller kräftdjur och/eller alg	50
Lägsta EC10 eller NOEC-värde från långtidsstudier med minst tre arter som representerar tre trofnivåer	10

* ECHA:s vägledning ger detaljerade synpunkter på valet av nivå

Det finns inga förslag till säkerhetsfaktorer för bräckt vatten eller älvmyningar i EU:s anvisningar. Det påpekas dock att arter i mynningar eller brackvatten kan vara känsligare för salthalt än rena marina organismer, varav kan följa större osäkerhet och att tabell 4.5 är mest lämpad.

4.2.3.5 MILJÖRISKBEDÖMNING FÖR ENSKILDA ÄMNER VID UTSLÄPP TILL SALTVATTEN

Den större artrikedomen i saltvatten jämfört med sötvatten och förekomsten av arter som endast finns i den miljön kan medföra att känslighetsvariationen är större. Detta antagande bygger på ett litet dataunderlag och är i sig en försiktighetsåtgärd. Man bör därför överväga om tre taxonomiska grupper ger tillräcklig säkerhet.

Om det enbart finns data från söt- eller saltvattensalg, kräftdjur och fisk, ska därför en högre säkerhetsfaktor användas för PNEC-värdet för saltvatten jämfört med vid beräkningen för sötvatten, pga. större osäkerhet. Om det finns data från ytterligare taxonomiska grupper (t.ex. mollusker), så ska en lägre säkerhetsfaktor användas.

Den säkerhetsfaktor som används kan variera från höga värden för kortidstoxicitet som grundas på L(E)C50-värden till lägre värden för långtidstester (kronisk toxicitet) som baseras på NOEC-värden. För långtidsstudier kan säkerhetsfaktorn sänkas om information finns för en bredare grupp av arter. Som en generell utgångspunkt kan nedanstående säkerhetsfaktorer användas:

³² ECHA (2008c). Guidance on information requirements and chemical safety assessment, ch. R.10: Characterisation of dose (concentration) – response for environment

Tabell 4.5. Säkerhetsfaktorer för beräkning av PNEC för saltvatten för enskilda ämnen³³

Tillgängligt underlag	Säkerhetsfaktor*
Lägsta korttids L(E)C50-värdet från söt- eller saltvatten för tre taxonomiska grupper (alg, kräftdjur och fisk) från tre trofinivåer.	10 000
Lägsta korttids L(E)C50-värdet från söt- eller saltvatten för tre taxonomiska grupper (alg, kräftdjur och fisk) från tre trofinivåer samt två ytterligare taxonomiska grupper av marina arter	1000
En långtidstest med NOEC-värde (från sötvatten eller saltvatten, studier av reproduktion av kräftdjur eller tillväxt av fisk).	1000
Lägsta NOEC-värde från långtidstest med arter från sötvatten eller saltvatten från två trofinivåer (alg och/eller kräftdjur och/eller fisk)	500
Lägsta långtids NOEC-värde från tre sötvattens- eller marina arter (normalt alg och/eller kräftdjur och/eller fisk) från tre trofinivåer.	100
Lägsta NOEC-värde från långtidstest från två sötvattens- eller marina arter (alg och/eller kräftdjur och/eller fisk) samt ett långtids NOEC-värde från ytterligare en marin taxonomisk grupp	50
Lägsta långtids NOEC-värde från söt- eller saltvatten för tre taxonomiska grupper (normalt alg och/eller kräftdjur och/eller fisk) från tre trofinivåer samt långtids NOEC-värde från ytterligare två taxonomiska grupper av marina arter	10

* ECHA:s vägledning anför ett stort antal specialfall vid olika fylliga underlag från söt- eller saltvatten. För denna diskussion hänvisas till källan.

4.2.4 Beräkning av PEC

Utsläpp av avloppsvatten kan orsaka effekter både lokalt i närheten av utsläppskällan och i ett större regionalt område beroende på dess egenskaper och effektkoncentrationer. PEC är den skattade koncentrationen av föroreningen i recipienten (Predicted Environmental Concentration), vilken inte får vara större än PNEC.

4.2.4.1 SPÄDNINGSZON

Det är inte nödvändigt att klara alla kvalitetskrav redan i avloppsröret för att recipientens miljökrav skall kunna upprätthållas. Istället kan koncentrationer över kravgränserna medges omedelbart vid utsläppspunkten. Det är viktigt att göra en individuell bedömning av hur stor en sådan spädningszon kan tillåtas vara. Är zonen liten i förhållande till recipientvolymen så kan effekten också antas vara liten, förutsatt att det inte förekommer unika eller känsliga habitat i zonen. Medgivande av spädningszoner innebär att kraven på avloppsvattenbehandling minskar och att utsläppen ökar. En bedömning behöver göras av om spädningszonen har ett innehåll som ger en negativ eller positiv effekt på de organismer som är rörliga i utsläppsområdet. Finns stationära fiskpopulationer i området måste spädningszonen minimeras, och så skall också ske om osäkerhet råder om omsättningsförmågan i zonen.

Man skiljer på två zoner, den närmast utloppet, där vare sig akut eller kronisk kravbild behöver vara uppfylld, och en yttre där det akuta kravet skall klaras men inte kroniska krav. I gränsen mellan zonerna klaras alltså det akuta kravet ($PNEC_{av}$).

³³ ECHA (2008c). Guidance on information requirements and chemical safety assessment, ch. R.10: Characterisation of dose (concentration) – response for environment

loppa) baserat på korttidstester, och i den yttre gränsen klaras också kroniska gränskrav ($PNEC_{avloppc}$) baserat på långtidstester. Utanför primärspädningszonen får därmed skadliga effekter inte uppstå vid långvarig exponering. Blandningszonbegreppet enligt vattendirektivet omfattar endast en zon (se också 7.4.1).

4.2.4.2 PEC_{LOKAL}

Koncentrationen av ämnen från ett avloppsvatten beror främst på utsläppsflödet och dess utspädning. Vid beräkning av koncentrationen av föroreningar i mottagande ytvatten antas avloppsvattnet blandas helt i recipienten. Försiktighetsprincipen påverkar även beräkningen av PEC, såtillvida att man i första hand inte tar hänsyn till koncentrationssänkande faktorer som avdunstning, adsorption till partiklar, sedimentering, eller högre nedbrytningshastighet i ytvattnet. Detta innebär samtidigt att vi inte tar ställning till den del som binds i sediment. I praktiken kommer högre koncentrationer av ett ämne att förekomma i spädningszonen pga. ofullständig omblandning och därmed varierande utspädning.

Avståndet från utsläppspunkten tills avloppsflödet är helt uppblandat med recipientens vatten kan variera mycket. Utspädningsfaktorn beräknas enligt

$$\text{Utspädning} = (V_{avlopp} + V_{recipient}) / V_{avlopp}$$

där recipientvolymen kan vara både flödet i ett vattendrag och volymen i en vik eller annat mottagande område. Föroreningskoncentrationen blir då

$$PEC_{lokal} = C_{avlopp} / \text{Utspädning [ml/l]}$$

PEC bör beräknas för utsläppet i sin helhet, räknat på utsläppt volym per dygn. PEC skall också beräknas för enskilda ämnen i avloppsvattnet om de bedöms ha miljöskadliga egenskaper, det vill säga att de är potentiellt bioackumulerbara, inte är lättnedbrytbara, har andra specifika toxiska egenskaper (exempelvis immuntoxiska, cancerframkallande eller endokrint aktiva ämnen) eller att det finns risk för biomagnifiering i näringskedjan. I fall där ett ämne släpps ut till ett vattendrag från flera punktkällor, kan man initialt beräkna dessa källor som en enda punktkälla.

Vid beräkning av tillgänglig utspädning ska hänsyn tas till varierande flödeshastigheter hos recipienten. Den påverkas av årstid, klimat och geografiska förhållanden och kan variera flera tiopotenser. Lågflödeshastigheten (eller 10:e percentil) bör användas. När endast medelflöden finns tillgängliga bör utspädningsflödet bedömas till en tredjedel av genomsnittsflödet. Lokala variationer i topografi och strömningsförhållanden medför att avloppsvattnets spridning i recipienten kan variera med olika vind- och lufttrycksförhållanden. För utsläpp av ämnen/avloppsvatten för vilka underlag saknas kan en utspädningsfaktor 10 användas som ett ersättningsvärde ("default") enligt ECHA:s vägledning.

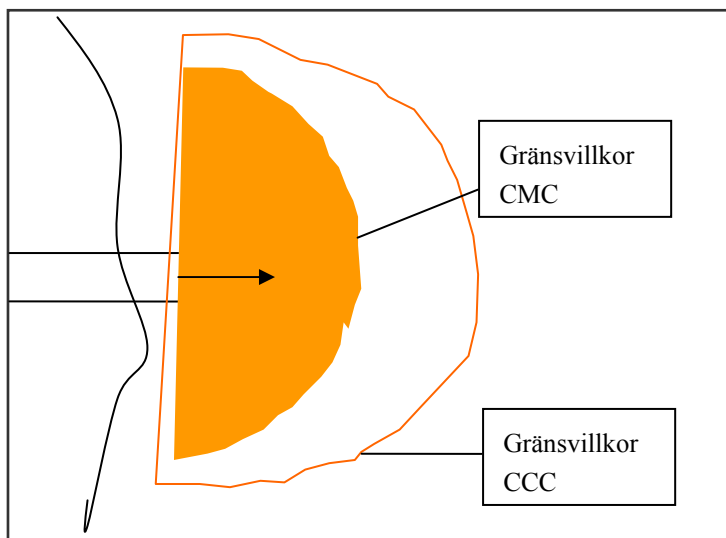
PEC kan omräknas efterhand som nya data tillförs eller om mer förfinade beräkningsmodeller används, vilket minskar riskanalysens osäkerhet. Osäkerhet i PEC-beräkningen behandlas bl.a. av Öberg (2009).³⁴

Om det beräknade PEC-värdet innebär problem så kan en mer förfinad metod användas, en flödesmodell som tar hänsyn till specifika utsläppsförhållanden och vattendragets egenskaper. En sådan modell är specifik för det aktuella vattendraget, och detta ligger utanför omfattningen för denna skrift. Kemiska analyser av specifika ämnen i avloppsvattnet eller av särskilt utsläppta spårämnen används ofta för att verifiera styrkan i en teoretiskt beräknad spridningsmodell.

4.2.5 Ett alternativ till PEC/PNEC-beräkning

Amerikanska Naturvårdsverkets (USEPA) behandling av spädningzoner kan vara klargörande. De rekommenderar att följande gränsvärden skall tillämpas³⁵ (figur 4.1):

- Kriteriet för maximal koncentration (CMC) baseras på akutttester och får vara högst $0,3 TU_a$ (akuttoxenheter), där $TU_a = 100/LC50$.
- Kriteriet för kronisk effektkoncentration (CCC) baseras på kroniska testnivåer och får vara högst $1,0 TU_c$ (kroniska toxenheter), där TU_c är $100/NOEC$.



Figur 4.1. Spädningzoner

USEPA tillämpar regeln att ett entimmes medelvärde inte får överstiga CMC, och ett fyradagars medelvärde inte CCC. Gränserna får överstigas en gång per tre år i

³⁴ Öberg, T (2009). Miljöriskanalys. Studentlitteratur, Lund

³⁵ USEPA (1991a). Technical Support Document for Water Quality-based Toxics Control

genomsnitt. Eftersom vi i Sverige normalt använder dygnsprover bör man överväga en anpassning till våra förhållanden, och en ansats som görs här är

- $CMC \leq TU_a$, där $TU_a = 100/EC50$
- $CCC \leq TU_c$, där $TU_c = 100/NOEC$

Ett dygnsprov får inte överstiga CMC, ett veckoprov inte CCC.

Olika regler för bestämning av zongränserna anges av USEPA, ett par av de enkla- re är:

- CMC skall vara högst 50 gånger längdskalan för utsläppet i någon rikt- ning, där längdskalan för utsläppet är kvadratroten ur tvärsnittsytan för ut- släppstuben.
- CMC skall vara högst 5 gånger det lokala vattendjupet i någon horisontell riktning från utsläppspunkten.

4.3 Miljöfarlighetskriterier för enskilda ämnen

REACH bilaga 13 ställer upp följande kravgränser. Ett ämne klassas som miljöfar- ligt när analyserna överskrider alla tre PBT-gränserna.

4.3.1 Persistens och bioackumulerbarhet

P-kriterium	halveringstid >60 d marint, >40 d i sötvatten ³⁶
vP	halveringstid >60 d marint eller i sötvatten
B-kriterium	BCF>2000
vB	BCF>5000

Tillgången på BCF-värden är begränsad och detta gäller i ännu högre grad för BMF (biomagnifieringsfaktorn) för fisk. Vi såg tidigare att man har beräknat ett linjärt samband mellan $\log BCF_{fisk}$ och $\log K_{ow}$. Man kan göra ansatsen att för sub- stanser med K_{ow} upp till 4,5 (nedre gräns för potentiell bioackumulering är $\log K_{ow} \geq 3$) är biomagnifieringen låg, dvs. $BMF=1$. I Guidance for the implementation of REACH, ch. 16 (ECHA 2008e) ges följande stegvisa samband (tabell 4.6):

³⁶ ECHA (2008d). Guidance on information requirements and chemical safety assessment, ch. R.11: PBT Assessment

Tabell 4.6. Förhållandet mellan K_{ow} och BCF

Log K_{ow}	BCF _{fisk}	BMF _{fisk}
< 4,5	< 2000	1
4,5 - < 5	2000 – 5000	2
5 – 8	> 5000	10
> 8 – 9	2000 - 5000	3
> 9	< 2000	1

4.3.2 Toxicitet

T kronisk NOEC < 0,01 mg/l

Bedömning av PEC/PNEC görs för respektive relevant ämne.

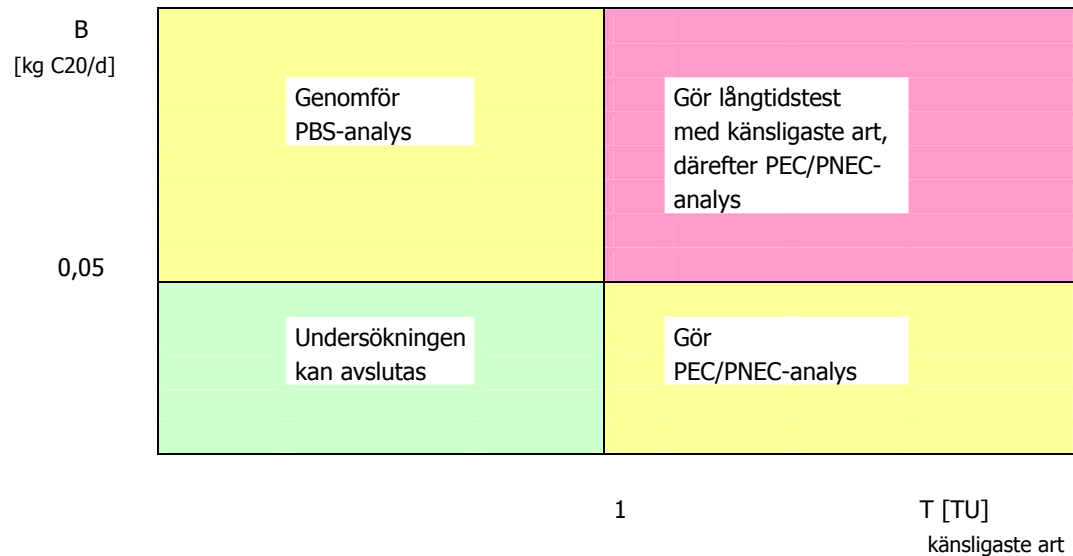
4.3.3 Massbalansberäkning

Med hjälp av insamlade uppgifter om vilka ämnen som förekommer i produktionen beräknas hur stora mängder av olika ämnen som kan förekomma i avloppsvattnet totalt sett per dygn och hur utsläppsmängderna kan variera under dygnet eller under en lämpligt vald produktionscykel. För riskbedömningen är det viktigt att beakta om utsläppen är kontinuerliga eller tillfälliga. Förekomst av uppsamlingstankar med intermittert tömning, rengöringsrutiner och avledning av dagvatten är exempel på faktorer som påverkar.

Saknas information om ingående ämnen skall verksamhetsutövaren begära mer information från leverantören. Målsättningen är att kunna utesluta så många substanser som möjligt från fortsatt undersökning.

4.4 Arbetsgång för uppföljning av ett enskilt fall

Med ledning av tabell 4.1 kan en enkel sållningsanalys göras som åskådliggjort i figur 4.2. Om EGOM är över 0,05 kg/d, gör en fullständig PBS-analys, och om toxiciteten är över 1, mätt som TU (här vanligen $TU_a = 100/EC50$), gör en PEC/PNEC-analys. Om båda dessa gränser passerats gör också ett långtidstest med den känsligaste arten för att påvisa eventuella effekter av bioackumuleringen.



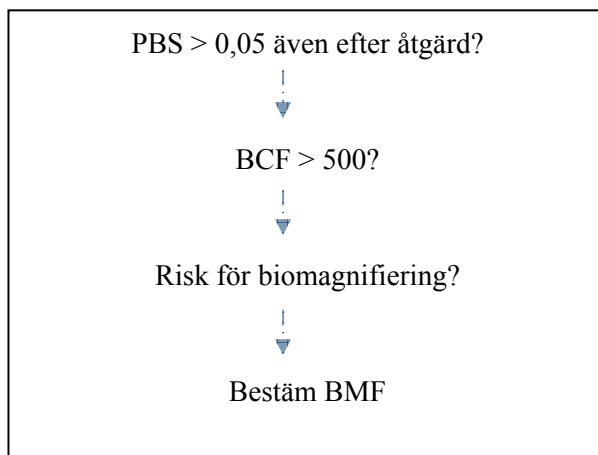
Figur 4.2 Enkel sållning

I de flesta fall utförs undersökningarna under ledning av ett konsulterande laboratorium. Ofta fördelas arbetet på flera laboratorier, eftersom det är svårt att hålla alla metoder igång när efterfrågan varierar. Konsulten som har uppdraget skall också göra en bedömning av resultatet (4.6). Räcker underlaget för att dra slutsatser, behöver vissa undersökningar förfinas, kan man dra slutsatser om behov av processåtgärder eller andra åtgärder? En del åtgärdsanalyser kan endast verksamhetsutövaren göra, men undersökningen är inte klar förrän denna analys är gjord. Avrapporteringen kan utmynna i att inga åtgärder behövs, att en åtgärdsplan upprättas, eller att åtgärder genomförs direkt. Den myndighet som förelagt verksamhetsutövaren att göra undersökningen eller huvudman för reningsverk som krävt den efterfrågar den informationen.

4.4.1 En första bedömning

4.4.1.1 TEST AV POTENTIELL BIOACKUMULERBARHET

Förekommer PBS och i så fall i en kvantitet som bör föranleda åtgärd? För bioackumulerbarhet saknas alltså etablerade gränser för avloppsvatten, men bedömningen bör kunna ta fasta på ämnens mängd per dygn, deras stabilitet och eventuella farlighet även med andra mått. Behöver bestämningen förfinas? Är PBS över gränsen 0,05 kg/d överväg bestämning av BCF. Finns det utgående från använd kemi risk för bioackumulering, överväg också att bestämma BMF (se bl.a. ECHA (2008b)³⁷).

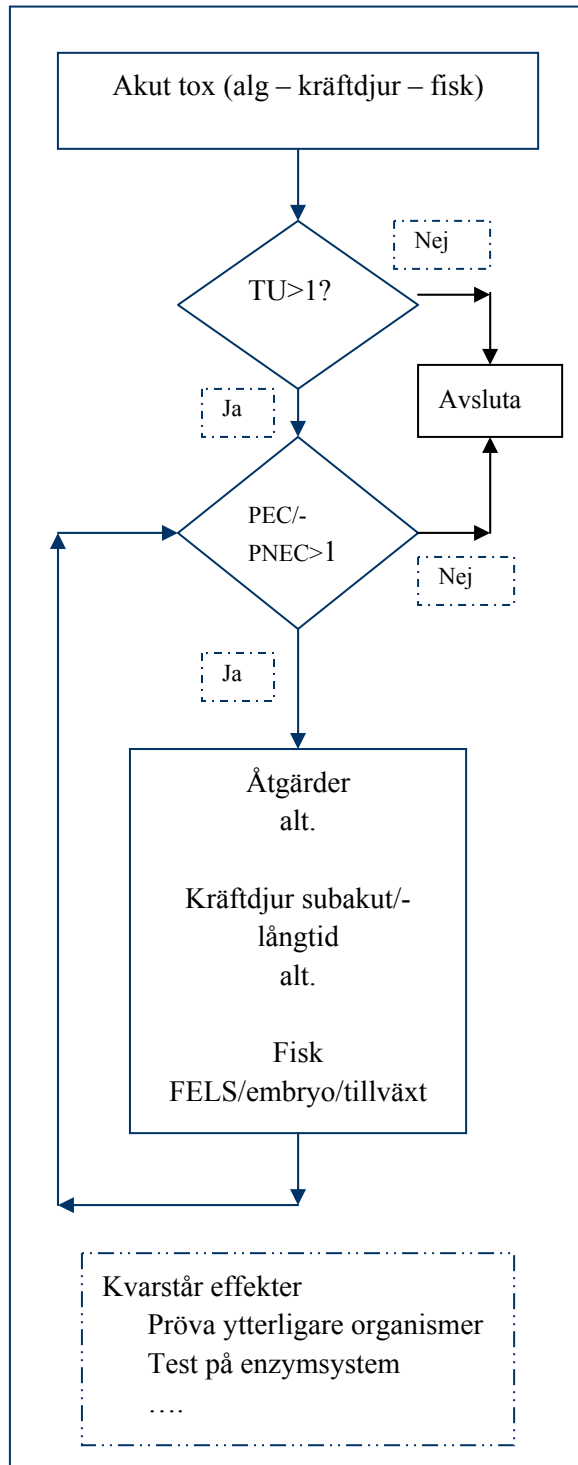


4.4.1.2 TEST AV TOXICITET

Om $EC_{50} > 100\%$ ($TU < 1$) bedöms akuttoxiciteten vara försumbar. En grov skala därunder är $70\% < EC_{50} < 100\%$ kan anses lågtoxiskt, $20 - 70\%$ medeltoxiskt och $< 20\%$ starkt toxiskt. Om avloppsvattnet är akuttoxiskt, bestäm med tillgängliga data PEC och PNEC. Föranleder kvoten åtgärder?

Överväg förfinad PNEC-bestämning med fler organismer eller långtidstest.

³⁷ ECHA (2008b). Guidance on information requirements and chemical safety assessment, ch. R.7c: Endpoint specific guidance



4.4.1.3 DELSTRÖMMAR

Bör med anledning av vad som framkommit någon delström (uppströms från reningsverket) studeras med dessa metoder innan man tar ställning till åtgärdsbehov? Finns anledning att misstänka att någon delström står för en väsentlig del av föroreningarna så kan det vara befogat.

Saknas beslutsunderlag kan det i det här läget vara skäl att överväga toxicitetsidentifiering (TIE) på hela avloppet eller delströmmar (USEPA 1991b, 1993a,b). Med denna metodik kan man ofta dra slutsatser om vilka substanser eller substansgrupper som orsakar toxiciteten, vilket underlättar avgörande av lämpliga åtgärder. En överblick över metodiken (med särskild inriktning på sediment) ges bland annat i Bakker et al. (2007)³⁸ och vägledningsdokument är under utarbetande för vattenmyndigheterna. Det finns möjlighet att göra en sådan undersökning med hjälp av svenska konsulter eller lärosäten.

4.4.2 Stora mängder svårnedbrytbart material

4.4.2.1 KÄNT UTSLÄPP.

- 1) Finns misstanke om vilka ämnen som är stabila, så verifiera detta och upprätta en plan för åtgärder eller ytterligare undersökningar.

4.4.2.2 OKÄND ORSAK.

- 1) Studera råvaru- och kemikalielistor.
- 2) Analysera sparat avloppsvattenprov med avseende på svårnedbrytbara ämnen.
- 3) Om problemet ej fått sin lösning, studera delströmmar.
- 4) Försök verifiera mängder med en materialbalans.
- 5) Utför långtidstest (toxicitet) om inte gjort tidigare.
- 6) Upprätta åtgärdsplan.

³⁸ Bakker, JF, Belzunce-Segarra, MJ, Castro, R, van de Heuvel-Greve, M, Klamer, HJC, Brack, W, Altenburger, R, Poulsen, V, Thomas, KV, Leonards, PEG (2007). Effect-Directed Analysis and Toxicity Identification Evaluation. Kap. 5 i rapporten http://www.harbasins.org/fileadmin/inhoud/pdf/Final_Products/WP3/WP3_cited_References/Bakker_et_al_2007_-_Effect_Directed_Analysis_and_Toxicity_Identification_Evaluation.pdf

4.4.3 Hög bioackumulerbarhet

4.4.3.1 KÄNT UTSLÄPP.

- 1) Finns misstanke om vilket ämne som orsakar störningen, så kontrollera riktigheten i detta och upprätta en plan för åtgärder.

4.4.3.2 OKÄND ORSAK.

- 1) Studera råvaru- och kemikalielistor.
- 2) Analysera sparade avloppsvattenprov med avseende på ämnen för vilka denna egenskap är känd. Alternativt: analysera råvaror eller produkter av samma skäl.
- 3) Om problemet inte fått sin lösning, studera delströmmar, först översiktligt med EGOM-test.
- 4) Försök verifiera mängder med en materialbalans.
- 5) Utför långtidstest (toxicitet) om inte gjort tidigare.
- 6) Upprätta åtgärdsplan.

4.4.4 Hög toxicitet

4.4.4.1 KÄNDA UTSLÄPP.

- 1) Finns misstanke om vad som huvudsakligen orsakat giftverkan, så verifiera detta t.ex. genom att kontrollera tabellerade toxicitetsdata respektive halter i sparade avloppsvattenprov, och upprätta en plan för åtgärder.

4.4.4.2 OKÄND ORSAK.

- 1) Studera råvaru- och kemikalielistor.
- 2) Analysera översiktligt delströmmar med bakterieluminiscens (*V. fischeri*) eller annan screeningtest, och mät delströmmarnas flöden för att kunna beräkna TEF (toxisk emission som $TU \cdot V_{avlopp}$).
- 3) Bearbeta data från de mest belastade delströmmarna: kartlägg persistens - kvarstår toxiciteten efter ett nedbrytningstest? Vilka processer orsakar den huvudsakliga TEF-belastningen?
- 4) Identifiera toxiska ämnen eller delprocesser, med särskild uppmärksamhet på nedbrytbarhet.
- 5) Upprätta åtgärdsplan.

4.4.5 Avvikelse i tillväxt, könsmognad, leverfunktion, m.m. hos fisk

Om två variabler avviker från referensen bedöms detta som en icke acceptabel störning på hälsotillståndet, och fortsatt utredning bör utföras. För vissa variabler, som t.ex. förekomst av sjukdom räcker förhöjd frekvens i en variabel³⁹. Som påpekats tidigare kan det vara svårt att fastställa signifikanta effekter.

4.5 Åtgärder

4.5.1 Vid hög bioackumulerbarhet

Förslag till åtgärder vid källan är

- byte av råvaror och hjälpkemikalier,
- processbyte,
- processlutning,
- utbyggd reningsanläggning,
- förändrad hantering av delflöden,
- insättning av särskild reningsutrustning, t.ex. för avskiljning för separat omhändertagande, såsom förbränning. Om PBS anses adsorberat på suspenderat material kan detta avskiljas.

4.5.2 Vid hög toxicitet

Effektiva åtgärder kan vara

- råvarubyten,
- processbyten,
- processlutning,
- rening av delflöden.
- Vid stötvis belastning med lätt nedbrytbara toxiska ämnen kan i vissa fall en utjämnings tank/bassäng möjliggöra behandling i befintlig eller utbyggd reningsanläggning.
- I svåra fall kan förbränning vara en möjlighet.

Processlutning kan innebära att restmaterial utnyttjas som råvara, och är endast möjligt om därvid produktkvaliteten inte blir lidande. För GMP-reglerade processer i läkemedelsindustrin kan råvarubyten och processbyten vara svåra att åstadkomma på grund av de speciella registreringskraven.

Motsvarande åtgärdsmonster kan tillämpas för åtgärder mot gentoxiska eller hormonella effekter.

³⁹ Naturvårdsverket (1997). Miljöpåverkan av skogsindustriella utsläpp. Rapport 4695

4.6 Rapportering

Undersökningsresultatet skall ofta ingå i bedömningsunderlaget för avgörande av beslut om tillåtlighet och åtgärder vid en verksamhet. Karakteriseringsrapportens utförlighet bör anpassas till detta.

Tabell 4.7 Checklista över uppgifter som skall ingå i karakteriseringsrapporten

Produktion	Råvaror, tillsatskemikalier, produkter och kända mellan- eller biprodukter inkl. nedbrytningsprodukter
Process	Översiktlig beskrivning av processerna som avloppsvattnet kommer från. Här kan också ingå periodisk rengöring av utrustning och lokaler, liksom kylvatten om det inte hanteras separat
Driftbetingelser	Drifttid per dygn under provperioden. Ev. avvikelser pga. provkörningar, driftstörningar, och i vad mån dessa försvårar tolkning av resultatet
Utsläppsförhållanden	Recipient, dess volym eller flöde, biologisk och kemisk status. Utsläppspunkter och flöden, utspädningsförhållanden
Avloppsvatten	Volym och flödeshastighet för delströmmar som samlas till totalavloppet. Tillgängliga fysikaliska och kemiska respektive biologiska data
Utsläpps begränsande åtgärder, reningsanläggningar	Typ, kapacitet, volym, uppehållstid, status, in- och utgående flöden, anslutna delströmmar
Provuttag	Använd teknik och utrustning. Uttagstid, tid mellan delprover, volym, kylanordning, konserveringsmetoder, blandningsförfaranden, antal prover och volymer. Transportsätt, och -tid
Provbehandling	Ev. pH- eller salthaltjustering, sedimentering eller filtrering
Analys och tester	Metod, referens, kort beskrivning av utförande. Använd utrustning. Referenssubstanser, testorganism, ympmängd, mätvärden under försökets gång, beräkningsmetoder
Resultat	Mätvärden för varje metod. Ev. jämförelser av data erhållna med olika metoder
Diskussion	Alla iakttagna egenskaper som motiverar ett ställningstagande, eller omvänt underlättar ett enkelt avslut av undersökningen. Motiv för avsteg från testschemat.
Slutsatser	Avloppsvattnets egenskaper utifrån undersökningsresultaten. Eventuella förslag till åtgärder som borde vara gynnsamma
Bilagor	Tabeller över primärdata och resultat, figurer, referenser

Testerna i karakteriseringsprogrammet kan i allmänhet uttryckas kvantitativt, och dessa resultat och de primärvärden de grundas på skall självklart ingå i en rapport. Men för att underlätta för tillsynsmyndigheter och företag skall där också finnas en uttolkning av vad dessa resultat innebär, dels för det enskilda testet, dels för provet i sin helhet.

II Metoder och erfarenheter

5 Testmetoder

5.1 Provtagning och provbehandling

Det finns standarder också för provtagning, bl.a. en serie SS EN ISO 5667 (se 8.2).

Avgörande för att testresultaten skall kunna användas är en väl genomförd provtagning. Planering av denna görs med utgångspunkt från vilka frågeställningar som skall besvaras. Detta gäller såväl val av provtagningspunkter och -frekvens, som provtyp (stickprov, tids- eller flödesstyrda dygns- eller veckoprov). Provtagningsperioden ska ge representativa prov på verksamhetens utsläpp till vattenrecipienten.

Om avsikten är att belysa risken för effekter i recipienten, tas prov på en punkt efter eventuella reningsanläggningar och liknande. För kartläggning av olika processers bidrag till ett samlat avloppsvattens effekter tas prover på delströmmarna från dessa, uppströms från reningsverket. Om avsikten istället är att undersöka effektiviteten hos en reningsanläggning tas prover på in- och utgående avloppsvatten.

Basinformationen har ett avgörande inflytande på uppläggningsplaneringen av provtagningen. Den skall därför alltid utföras i direkt och nära kontakt med drifts- och miljöansvariga som är väl insatta i produktions- och utsläppsförhållanden vid anläggningen. Alla dessa uppgifter skall dokumenteras i samband med provtagningen.

Den som utför undersökningar ansvarar gentemot uppdragsgivaren för undersökningsresultaten och deras användbarhet och säkerställer detta bl.a. med en bra planläggning. Förslaget till provtagnings- och testprogram skall redovisas i rapporten, med motiveringar till ev. förändringar under genomförandet. Laboratoriet skall vara ackrediterat för de undersökningar som utförs, och arbetet skall följa fastställda kvalitetssäkringsrutiner.

Provtagning utförs enligt SNFS 1990:11 av utbildad/certifierad eller med motsvarande kunskaper utrustad person. Korrekt uttag, hantering och förvaring av avloppsvattenprover förutsätter viss kännedom om deras karaktär. Så kan t ex avloppsvatten innehållande metaller eller lättflyktiga komponenter medföra särskilda uttags- och konserveringsmetoder. Vidare kräver vissa tester att avloppsvattnet behandlas och förvaras på särskilt sätt. Uttag, hantering och förvaring måste därför planeras med stor omsorg och lämpligt tillvägagångssätt avgöras för varje enskilt fall.

5.1.1 Provtagningsplan

Provtagning bör om inte annat bestäms ske dygnsvis med flödesstyrd provtagare (dvs. där provvolymen är proportionell mot avloppsflödet) under minst en arbetsvecka (fem eller sju dygn). Perioden kan vara längre om avloppsvattnets egenska-

per varierar under en längre period och kan också vara uppdelad på flera perioder under ett år om helt olika processer körs under endast en del av året. Ett sådant förfarande motiverar ytterligare undersökning av orsaker om en miljörisk påvisas.

Tabell 5.1 Ungefärlig provåtgång för några biotester

Metod	Vatten- mängd/test (l)	Fördelat på	Anmärkning
Akut toxicitet			
<i>Vibrio fischeri</i>	0,3	3x100 ml	
Mikroalg tillväxthämning	1	2x500 ml	
<i>Daphnia</i>	1	2x500 ml	Test i 150 ml glasbägare
<i>Nitocra</i>	1	2x500 ml	Test i 10 ml kärl
Sebrafisk, vuxen	250	25x10 l	Test i 25 l akvarier
Embryo (FET) sebrafisk	1	2x500 ml	Test i 96-håls mikroplattor
Reproduktion och/eller utveckling			
Sebrafisk	300	30x10 l	Test i 50 l akvarier
<i>Daphnia</i>	20	20x1 l	Semistatiskt
<i>Nitocra</i> , livscykel	5	10x500ml	Semistatiskt
<i>Nitocra</i> , larvutveckling (LDR)	2	4x500 ml	Semistatiskt
Tillväxthämning			
Makroalg (<i>Ceramium</i>)	1	2x500 ml	
<i>Lemna minor</i>	6,5	5x5x250 ml	
<i>Allium</i>	5	10x500 ml	
Nedbrytbarhet			
Aktivt slam respirationshämning	3		
Aktivt slam nitrifikationshämning	2		
Nedbrytbarhetstest	15		

*) Provmängderna avser ett standardfall med 8 koncentrationer utan replikat i pilottest och 8 koncentrationer med replikat i huvudtest (akut). För reproduktionstest 6 koncentrationer med replikat

Undantagsvis kan tester utföras på ett dygnsprov från mindre verksamheter om det inte finns anledning att befara variationer i avloppsvattnets egenskaper. Man måste avgöra om provet skall kylförvaras, om det bör frysas redan som delprov, osv.

Erforderlig provmängd beror av vilka tester som skall utföras, och om prov behöver sparas för eventuella ytterligare tester beroende på utfall. Det totala provvattenuttaget skall täcka även en sådan kompletterande testning. Denna reserv skall sparas tills den slutliga utvärderingen är slutförd. Tabell 5.1 ger exempel på volymbehov, men detta måste styras av konsultlaboratoriet.

5.1.2 Provtagningen

5.1.2.1 FLÖDE

Värden på flöde i m³ noteras per timma, dygn och år. Högsta, lägsta flöde och medianflöde beräknas. Förekomsten av intermittenta flöden, stötflöden och stoppveckor kan påverka recipientkoncentrationen drastiskt och måste därför noteras. Analyserade delflöden bör kontrolleras på motsvarande sätt.

5.1.2.2 PROVKÄRL

Erfarenheter har visat att avloppsvattenkvaliteten kan påverkas under såväl infrysnings- som upptiningsskedet. Genom att minimera provvattenmängden i kärnen kan tiden för dessa moment begränsas. Då många av de laboratorietester som används för karakterisering av industriavloppsvatten kräver relativt små provvolym (1-20 l) per test/testtillfälle är det lämpligt att använda 500 ml eller 1-liters kärl för infrysning. För tester som kräver stora provvolym fördelas vattnet på högst 10-liters kärl. Av tabell 5.1 framgår provvattenåtgång och fördelning på kärl för några av de förekommande testerna. Kemiska analyser kräver i allmänhet små tillskott till dessa volymer, däremot bör alltså ytterligare prov sparas för eventuella ytterligare tester.

Proverna skall förvaras i nya, väl rengjorda kärl av kemiskt inert material. I normalfallet rekommenderas polyetenkärl för oorganiska ämnen, glas för organiska. Om flyktiga komponenter förekommer bör glas eller kärl av rostfritt stål användas. Prover avsedda för metallanalys och mikrobiologisk undersökning kräver i många fall förbehandlade specialkärl. Provkärlen skall fyllas helt utom då frysförvaring är aktuell och hänsyn därvid måste tas till den volymförändring som frysningen innebär.

5.1.2.3 PROVUTTAG

Klara direktiv om lämpligt behandlingssätt utgående från avloppsvattnets karaktär, specifika krav ur testsynpunkt mm skall ingå i provtagningsprogrammet. Speciellt bör information om säkerhetsrisker inklusive smittorisker och erforderliga skyddsåtgärder lämnas till provtagare och labpersonal.

Variation i process och produktion medför att många industrier producerar avloppsvatten av mycket skiftande karaktär. Sådana variationer uppfångas endast genom upprepad provtagning vid skilda lämpliga tillfällen. Genom att testa flera skilda provvatten från en och samma anläggning ges möjlighet att identifiera ur miljösynpunkt viktiga faser i anläggningens drift. Stickprovtagning under kortare eller längre period kan också användas för att följa tidsmässiga variationer i avloppsvattenkvalitet, orsakade av smärre driftstörningar, start- och stopprutiner etc. Antalet erforderliga provtagningstillfällen beror av den variation som kan förväntas med hänsyn till produktions- och driftsförhållanden. Kända störningar och variationer i driften måste identifieras och om möjligt inrymmas i testprogrammet.

Flödesstyrd uppsamling av dygns- eller veckoprov ger möjlighet att påvisa vissa tillfälliga utsläpp av t ex persistenta eller bioackumulerande ämnen, medan förfarings sättet försvårar upptäckt av tillfälliga koncentrationsvariationer.

Tillvägagångssättet vid provuttag måste anpassas till typ av vatten⁴⁰. Flödesstyrd provtagning av avloppsvatten innehållande lättsedimenterande partiklar, kan vid låga flödes hastigheter kräva omrörningsanordning. Detsamma gäller för provtagning av avloppsvatten innehållande olja eller fetter. Alternativt måste prover i detta fall tas såväl i ytskiktet som under ytan. Uppsamlingskärlet skall vara försett med kylanordning.

Det är av vikt att dokumentera all information som rör provtagningen samt de förhållanden som råder vid provtagningstillfället. Uppgifterna skall avse de faktiska förhållandena vid provtagningstillfället och skall redovisas i karakteriseringsrapporten.

5.1.3 Provbehandling

5.1.3.1 PROVKONSERVERING

Beroende på vilka undersökningar som skall utföras kan det vara nödvändigt att dela ett prov i olika portioner som omhändertas, konserveras och/eller förvaras på olika sätt. Sålunda kräver t ex avloppsvatten med innehåll av organiska nedbrytbara ämnen att proverna endera analyseras praktiskt taget omedelbart eller fryses in snarast efter uttaget och förvaras frysta fram till teststillfället. Prover avsedda att analyseras med avseende på metall- eller närsaltinnehåll konserveras genom syratillsats. Huvudregeln är att prover avsedda för kemisk undersökning skall analyseras så snart som möjligt, oftast inom 3-5 dygn, i några fall inom 5-10 timmar, efter provuttaget. Proverna skall förvaras kallt (0-4 °C) och mörkt tills analysen påbörjas. Uppgifter om ur analys synpunkt lämpligt behandlingssätt (särskild standard eller analysföreskrift för respektive mätstorhet) samt i förekommande fall förbehandlade provkärl tillhandahålls av testlaboratoriet.

I standardfallet skall provvatten avsett för biologisk karakterisering frysas in snarast efter uttaget. I vissa fall skall inverkan av lagring undersökas genom att provet och en referenskemikalie testas snarast efter provtagning och ånyo efter en tids lagring. Nedkylning av provvatten skall ske omedelbart efter uttaget. Detta innebär att kontinuerliga provtagare bör ha uppsamlingskärlet i ett kylskåp. I de fall frysning är rekommenderat skall detta ske snarast efter provtagningen helst redan vid industrin. Tiden mellan provuttag och infrysning bör inte överstiga 12 timmar. Infrysnings- och lagringstemperatur ca -20 till -25°C.

⁴⁰ Naturvårdsverket (1987). Nordström, B. Provtagning – avloppsvatten. Metoder och felkällor. Rapport 3398

5.1.3.2 TRANSPORT

Provvatten som frysts in vid industrin förs med frystransport till testlaboratoriet. Om infrysning skall ske vid laboratoriet transporteras de snarast efter uttaget nedkylda (2-4°C) proverna med kyltransport. Det senare är även tillämpligt då tester skall utföras på ofryst vatten.

Det åligger konsultlaboratoriet att, i samband med upprättandet av provtagningsprogram, ange lämpliga provvolym, provkärl, behandlingsmetoder (inkl. eventuell konservering), förvarings- och transportsätt mm som hör samman med och möjliggör en ur alla synpunkter korrekt behandling av provvatten. Faktiska förhållanden skall som nämnts redovisas i karakteriseringsrapporten.

5.1.4 Provvattenbehandling i samband med test

Frysta provvatten skall testas omedelbart efter upptining. Omfrysning av provvatten får inte förekomma. Proverna skall tinas under rinnande vatten med en temperatur av ca 15°C och varsam omskakning. Med detta förfaringssätt tinar:

- en liter på ca två timmar
- fem liter på ca fyra timmar
- tio liter på ca tio timmar.

Större kvantiteter i ett och samma provkärl bör undvikas (jämför tabell 5.1).

Huvudregeln vid test av avloppsvatten är att det skall utföras på obehandlade prover. Emellertid kan testningen störas av faktorer orsakade av avloppsvattnets karaktär. Testmetoderna är i varierande grad känsliga för dessa faktorer, vilket kan medföra att praktiska åtgärder ibland måste vidtas som följer.

5.1.4.1 PARTIKELRIKA AVLOPPSVATTEN

Filtrering, centrifugering och andra frånskiljningsmetoder medför stor risk för att aktiva komponenter som bundits till partiklarna undandras från testning. Sådan behandling skall därför undvikas i största möjliga utsträckning. I de fall där avloppsvattnet leds till ett externt reningsverk kommer huvuddelen av partiklarna att hamna i slammet, och egenskaperna blir därför viktiga för slammets användbarhet.

Vid tester där partikelnärvaron orsakar svåra problem rekommenderas att låta provet sedimentera under 30 minuter vid 4°C eller att göra en grovfiltering så att endast de största partiklarna (med en relativ liten aktiv yta tillgänglig för lösta komponenter) avlägsnas. Fibrösa filter med stor kontaktyta får inte användas. Den frånskilda partikelmassan bör undersökas separat. Detta kan ske genom jämförande test på avloppsvatten med respektive utan fällning, med testmetod där partiklarna inte utgör något större hinder. Ljusberoende organismer som autotrofa alger får försämrade tillväxt. I sådana fall kan testet med *Lemma* vara fördelaktigt.

Vissa testmetoder t ex Microtox erbjuder möjlighet till bestämning av korrektionsfaktor för bl. a. grumlighet. För att få en uppfattning om partiklarnas toxicitet

enligt denna metod skall test utföras på filtrerat respektive ofiltrerat provvatten. Korrektionsfaktorn bestäms på det ofiltrerade provet.

5.1.4.2 BAKTERIERIKA AVLOPPSVATTEN

Tillgängliga steriliseringsmetoder som t ex upphettning, UV-ljusbehandling, homogenisering, filtrering, m.fl. innebär alla stora risker för att proverna vid behandling påverkas även i andra avseenden.

I en undersökning⁴¹ studerades sju olika steriliseringsmetoders inverkan på ett avloppsvattens toxicitet och kemiska sammansättning. Kemisk sterilisering med dietylpyrokarbonat visade sig vara den i nämnda avseenden skonsammaste metoden. Undersökningen visade också att filtrering och centrifugering skall undvikas då dessa metoder kraftigt förändrade avloppsvattnets kemiska sammansättning och toxicitet. Även övriga steriliseringsmetoder som ingick i undersökningen påverkade i högre eller mindre grad avloppsvattnet i endera eller båda dessa avseenden. En förändring som kan ske är utfällning. Sterilisering bör därför tillgripas först efter noggrant övervägande.

Jämförande test på steriliserat respektive icke steriliserat provvatten m a p toxicitetsförändringar bör utföras på motsvarande sätt som för partikelrika avloppsvatten.

5.1.4.3 FÄRGADE PROVVATTEN

Färgade prover kan, beroende på kulör och intensitet, orsaka problem vid t ex spektrofotometriska mätningar. Vid tester där denna teknik används skall korrektion för färgpåverkan utföras.

5.1.4.4 JUSTERING AV PH

för biologiska tester rekommenderas i standardfallet att provvatten med pH mindre än 6 och högre än 8 justeras till pH $7,0 \pm 0,1$ med NaOH respektive HCl omedelbart före testens genomförande. Justering till annat pH kan göras i de fall testmetoden så kräver. Om pH förändras under testet kan man behöva buffra.

5.1.4.5 JUSTERING AV SALTHALT

Provvattnets salthalt eller innehåll av dominerande joner bestäms. Salthalten justeras vid behov till de krav som ställs för vald försöksorganism. Erfarenheten har dock visat att toxiciteten hos vissa ämnen kan variera med salthalten, varför detta skall vägas in vid den slutliga bedömningen. Salthalts- och pH-justeringar skall i förekommande fall utföras omedelbart före teststart.

5.1.4.6 SYRGASHALT

Luftning kan i vissa fall krävas för att upprätthålla lämplig syrgashalt under test, men kan medföra att flyktiga komponenter går förlorade. Man bör därför inte ru-

⁴¹ Blanck, H, Gustavsson, K & Adolfsson-Erici, M (1983). Effects of various sterilization methods on toxicity and chemical composition of industrial wastewater samples. *Water Research* 17, 965-973

tinmässigt tillgripa luftning utan låta resultat från mätning under pilottest avgöra eventuellt behov. I de fall luftning bedöms nödvändig skall denna ske med varsamhet (genom kapillär rör). Akvarier skall vara täckta med glas i syfte att minska avgången av mer eller mindre flyktiga ämnen. Luftning av provvatten före tillsats till testakvarierna bör så långt möjligt undvikas. Många biotester föreskriver regelbundet byte av testlösning under testperioden, detta medför justering av såväl salthalt och pH som syrehalt, utan att andra tillsatser behöver göras.

5.1.4.7 DOKUMENTATION

För utvärdering av karakteriseringen krävs att all information rörande provvattnets behandling, före och i samband med test, är noga dokumenterad och redovisad i karakteriseringsrapporten (4.6).

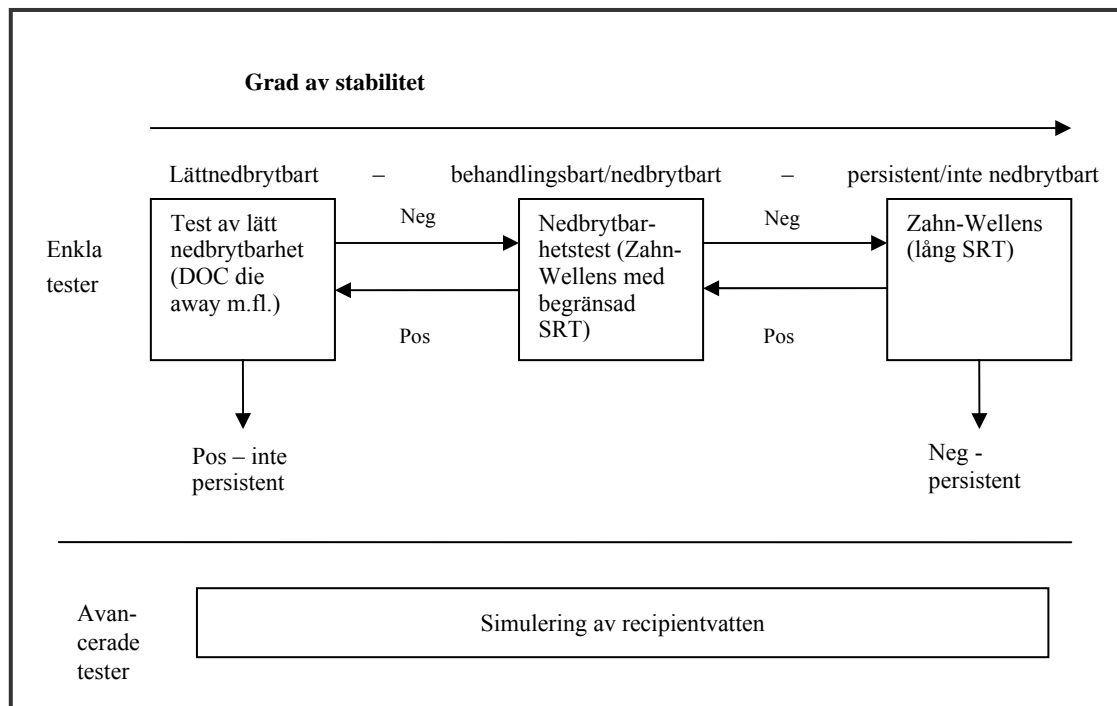
5.2 Nedbrytbarhet

Stabiliteten hos ett ämne innebär inte bara att det potentiellt kan påverka organismer under lång tid utan också att det, när det väl har nått vattenmiljön, kan få långa spridningsvägar. Ett avloppsvatten innehåller oftast både lättnedbrytbart och mer eller mindre stabilt material.

Kvantifiering av nedbrytbarhet eller dess motsats persistens i ett sammansatt prov är inte okomplicerad, och låter sig i de flesta fall inte göra annat än som närmevärde. Den vanliga bestämningsmetoden använder biologisk nedbrytning, men andra mekanismer, som t.ex. hydrolys eller fotolys påverkar resultatet. Vid bedömningen av persistensen hos ett enskilt ämne används begrepp som halveringstid eller att en viss procent skall ha brutits ned inom en viss tid som beskrivet under definitionerna nedan. Ett sätt att beskriva egenskapen är att persistensen kan uttryckas som en gradient, som går från lättnedbrytbart via behandlingsbart till ej nedbrytbart, dvs. persistent (figur 5.1).

Det bör noteras att även om nedbrytning mestadels också innebär minskning av de ekologiska risker, som kan vara knutna till ett ämne så kan nedbrytnings- eller omvandlingsprodukter (metaboliter) i vissa fall vara mera miljöfarliga än utgångsämnen. Ett relevant mått är därför om toxiciteten minskar efter ett nedbrytbarhetstest, och det ger också ett alternativt och mer lättbedömt sätt att mäta nedbrytbarheten.

Att ett ämne adsorberas till sedimentande partiklar eller direkt till sedimenten och därigenom ”försvinner” ur recipientens vattenmassa innebär inte i sig någon nedbrytning eller eliminering, utan bara att ämnen som kan vara riskabla exempelvis för sedimentens biota flyttats från en del av miljön till en annan.



Figur 5.1: Persistensgradient och använda tester⁴²

Många syntetiskt framställda ämnen är miljöfrämmande, vilket kan innebära att det saknas mikroorganismer som har förmågan att utnyttja dem som substrat och därigenom bryta ner dem. Sådana ämnen kan därför finnas kvar oförändrade under lång tid sedan de hamnat i miljön.

5.2.1 Definitioner

Begreppet persistens tillämpat på organiska ämnen i miljön definieras som den tid som ämnet finns kvar oförändrat i någon delmiljö om detta påverkas av endast nedbrytning/-omvandling. Persistens (P) är således en funktion av många faktorer, såväl inneboende egenskaper som omgivningsbetingade. P mäts vanligen som ett ämnes halveringstid, men i ett sammansatt avloppsflöde är detta inget bra mått, utan motsatsen nedbrytbarhet föredras. "Persistenta ämnen" används i regel synonymt med svårnedbrytbara eller långsamt nedbrytbara ämnen. En grov klassificering av ett ämnes egenskaper i dessa avseenden kan göras i: lätt nedbrytbar - nedbrytbar - svårnedbrytbar (persistent). I naturen samverkar (interagerar) ofta biologiska och abiotiska nedbrytningsprocesser.

Lättnedbrytbart är ett ämne som uppfyller kraven i testet för lätt nedbrytbarhet.

Nedbrytbart är ett ämne som uppfyller kraven i något nedbrytningstest.

⁴² OSPAR (2007). Practical Guidance Document on Whole Effluent Assessment. OSPAR Commission, London

Nedbrytning (och därmed också nedbrytbarhet) av ett ämne eller en ämnesblandning är inte helt entydigt: man kan skilja mellan

- *primär nedbrytning*, innebärande att ämnet/ämnena förlorar sin ursprungliga struktur (identitet) och därigenom ofta en specifik egenskap,
- *funktionell nedbrytning*, innebärande att vissa betydelsefulla egenskaper, t ex giftighet eller ytspänningsaktivitet hos ämnet/ämnena försvinner,
- *total nedbrytning*, innebärande fullständig oxidation (mineralisering) till koldioxid, vatten och i många fall diverse salter.

5.2.2 Testmetoder

De tillgängliga testerna simulerar nedbrytning, sorption eller andra kemiska eller fysikaliska reaktioner, de enklaste som testar lättnedbrytbart eller nedbrytbart är mest använda och väl utvecklade (för enskilda ämnen), medan sådana som simulerar förlopp i en recipient är mindre välutvecklade. Några metoder har anpassats till test av komplexa vatten. I KIU förordas en stegvis process där man börjar med de enkla testerna, och går till de mer sofistikerade om det bedöms nödvändigt.

Förhållandena i ett labtest är förstås mycket skiljaktiga från dem i recipienten. Provkoncentrationen, temperaturen och mängden biomassa (i synnerhet i nedbrytbarhetstester, inherent degradability) är högre.

Utförningen av testet beror av vilken recipient avloppsvattnet skall möta efter behandlingen. Endera (Beek et al. 2001):⁴³

- Låg ympkoncentration och förhållandevis hög substratkoncentration (tester av lättnedbrytbarhet). Dessa tester försöker simulera förhållanden i ett ytvatten, även om både provkoncentration och organismtäthet är kraftigt förhöjd i försöket.
- Hög ympkoncentration och förhållandevis låg substratkoncentration (tester av nedbrytbarhet). Ett industriellt reningsverk kan motsvara denna situation. Det är svårt att extrapolera till de nedbrytningshastigheter man kan finna i miljön från ett positivt test, medan ett negativt test indikerar att provet innehåller stabila föroreningar.

Standardmetoder finns i ISO:s riktlinjer och i OECD:s serie 301, för lättnedbrytbart (ready degradable), och i OECD 302 för nedbrytbarhet (inherent tests), tabell 5.2. Mätvariabler är syreförbrukning och koldioxidavgivning, men DOC-eliminering är också vanlig. Om den mätningen inte följer en typisk tillväxtkurva (lagfas, exponentiell fas och avtagande fas) kan andra processer som adsorption spela en väsentlig roll och resultaten bör ses som eliminering.

⁴³ Beek, B, Böhlting, S, Franke, C, Jöhncke, U, Studinger, G, Thumm, E (2001). The assessment of biodegradation and persistence. I Biodegradation and persistence (B. Beek redaktör), Springer Verlag, Berlin

Tabell 5.2 Tester av lättnedbrytbarhet, nedbrytbarhet och andra nedbrytbarhetstester för enskilda ämnen⁴⁴

Metod	Varaktighet	Ympmaterial	Mätningar
<i>Lättnedbrytbart eller nedbrytbart med biologiska tester</i>			
OECD 301A (ISO 7827)	Upp till 28 dagar	Mikroorganismer från ytvatten, renat vatten från reningsverk eller aktivt slam	Lösligt organiskt kol ^a (DOC)
OECD 301B (ISO 9439)	Upp till 28 dagar	Mikroorganismer från ytvatten, renat vatten från reningsverk eller aktivt slam	CO ₂ -produktion
OECD 301C	Upp till 28 dagar	Mikroorganismer i en blandning från 10 olika utsläpp, inkl. från industriellt reningsverk 1 – 3 månaders mogning i laboratoriet!	O ₂ -upptag
OECD 301D (ISO 10707)	Upp till 28 dagar	Mikroorganismer från ytvatten eller renat vatten från reningsverk	O ₂ -upptag
OECD 301E (ISO 7827)	Upp till 28 dagar	Mikroorganismer från renat vatten från reningsverk	Lösligt organiskt kol ^a (DOC)
OECD301F (ISO 9408)	Upp till 28 dagar	Mikroorganismer från ytvatten, renat vatten från reningsverk eller aktivt slam	O ₂ -upptag
OECD 302B	Upp till 28 dagar	Tvättat aktivt slam. Förhållandet mellan ympens DOC och provets skall vara 2,5 till 4:1. Adapterad ymp medges	Lösligt organiskt kol ^a (DOC) eller COD
<i>Marina nedbrytbarhetstester</i>			
OECD 306 (ISO 7827 and 10707)	Upp till 60 dagar	Mikroorganismer ^b i det testade havsvattnet	Lösligt organiskt kol ^a (DOC)
OECD 309 (ISO 14592)	Ingen bestämd varaktighet	Mikroorganismer i ytvatten	Specifik kemisk eller radiokemisk analys
OECD 310 draft (ISO 14593)	Upp till 28 dagar	Aktivt slam med suspenderade ämnen, utsläpp från reningsverk eller ytvatten	CO ₂ -produktion

^a Efter membranfiltrering eller centrifugering och våtoxidering eller förbränning

^b Kolonibildande heterotrofa bakterier

Testerna av lätt nedbrytbarhet har också förhållandevis låg provkoncentration, 10 till 50 mg TOC/l, och eftersom förhållandet av provmaterial till mikroorganismer är högt sker också hydrolytisk och fotolytisk nedbrytning. Nedbrytbarhetstester med hög ämnes- och ympkoncentration är mer lika förhållandena i ett reningsverk. Ett sådant test är Zahn-Wellens (ISO 9888). Även i dessa test, med en mer gynnad mikrobiell verkan, kan andra nedbrytningsmekanismer ha en inverkan.

Det finns två huvudsakliga principer för att följa nedbrytningens fortskridande. Enligt den ena följer man respirometriskt eller på annat sätt den syreåtgång eller den koldioxidproduktion, som är en följd av biooxidationen. Analysen av syreåtgången kan göras med någon variant av BOD-metodik, medan båda gaserna kan

⁴⁴ Efter Johnson, I & Watts, C (2001). Review of potential screening methods for the assessment of the persistence and bioaccumulation potential of effluents. Draft report to the Dept of Environment, transport and regions, UK

bestämmas med elektroder eller gasanalyser. Är en noggrannare bestämning nödvändig måste O₂-tärning eller CO₂-produktion registreras kontinuerligt eller analyseras intermittent med inte för långa intervaller under en tidsperiod om vanligen minst 28 dygn för att man skall få en tillräckligt detaljerad nedbrytningskurva.

Enligt den andra principen för att följa nedbrytningen analyserar man direkt det organiskt bundna kolets förbrukning under mineraliseringens gång ("die-away"-tester). Man får därvid nedbrytningskurvor, som ter sig som spegelvändningar av de nyss berörda BOD- eller CO₂-kurvorna. Kolet bestäms i dessa fall antingen som "totalt organiskt" (TOC) eller som "löst organiskt" (DOC). Det förstnämnda måttet är principiellt att föredra men kan för prover med mer eller mindre grovdispers innehåll ibland vålla tekniska mätsvårigheter. Detta kringgås vid mätning av DOC, men det kan å andra sidan ge resultat som dels inte är fullt representativa för prov med suspenderat, organiskt innehåll, dels i avsevärd grad kan vara störda av biosorptions- och desorptionsfenomen under nedbrytningens gång.

Utvärderingen av nedbrytbarheten förutsätter att den fastslagna nedbrytningen kan ställas i relation till det totala innehållet av organiskt material i de testade proverna. För de kolanalytiskt baserade die-away-testernas del innebär detta krav inte något problem: initialvärdena vid försökens start anger den för kalkylerna behövliga referensnivån.

Det är inte ovanligt att man skriver nedbrytning av eller persistens hos avloppsvattnet (som helhet). Detta är inte lämpligt, eftersom det är föreningar i avloppsvattnet, eller en egenskap som är beroende av dessa – t.ex. toxicitet – som kan vara persistent. Mängden av sådana ämnen kan skattas genom att mäta t.ex. TOC eller DOC. Ett problem med bestämning av nedbrytbarheten hos blandningar är som nämnts tidigare att en mindre mängd svårnedbrytbart material i en stor mängd lättnedbrytbart ger resultatet att vattnets föroreningar är lätt nedbrytbara, även om det innehåller mycket persistenta föreningar. Ett test som visar på stor andel svårnedbrytbart är dock relativt säkert, och därför är det motiverat att göra det som en halvkvantitativ skattning.

De vattenprover som utnyttjats för (genomgått) nedbrytningsförsök kan – där så är befogat – användas för att närmare karakterisera den persistenta fraktionen. Exempel på tester är toxicitetstester som kräver liten provmängd (t ex bakterieluminescens, *Nitocra*), kemisk karakterisering eller screening för potentiellt bioackumulerbara ämnen. Eftersom nedbrytbarhetstestet innebär en spädning, så minskar känsligheten i analysen.

5.2.3 Bestämning av nedbrytbarhet vid direkt utsläpp

Svårigheten att garantera ett enhetligt ympmaterial påverkar noggrannhet, precision och reproducerbarhet negativt. I avloppsvatten som innehåller ämnen, som inte är så lättnedbrutna, och som behöver längre lagtider blir precisionen lägre, särskilt när låga celldensiteter används. Låg celldensitet är å andra sidan önskvärd för att mi-

nimera störning från tillförda föroreningar i senare undersökning av det behandlade provet.

5.2.3.1 MODIFIERAD METOD FÖR AVLOPPSVATTENPROV

I en modifiering av ISO 7827 för avloppsvattenprover är testperioden 28 d eller till dess DOC-reduktionen är mindre än 10 % inom 4 dagar. Avloppsprover med liten andel lättnedbrytbart material kan behöva förlängd testperiod, 40 eller ända upp till 80 dagar.

Provets inverkan på slamorganismerna testas med ett respirationstest, och koncentrationen justeras så att den svarar mot EC20-värdet för inhibition. Det är viktigt att inte onödigtvis späda provet mer än så, eftersom eventuell fortsatt testning av det stabiliserade provet bör ske med ett så koncentrerat prov som möjligt. Mängden DOC skall vara minst 10 mg/l vid teststarten.

Som ymp används primärsedimenterat avloppsvatten och odlingsmediet bereds som beskrivet i ISO 7827. Är avsikten att testa algväxt på det stabiliserade provet, behöver saltkoncentrationen reduceras. Skall det stabiliserade provet användas till PBS-kontroll är det viktigt att man inte använder en för stor ympsats, eftersom den tillsatta biomassan kan leda till överskattning i den bestämningen. För att följa utvecklingen analyseras DOC regelbundet till den sista dagen.

COD_{Ct} som variabel förekommer fortfarande i standardbeskrivningar, men kan för det mesta avvaras.

5.2.4 Behandling i externt reningsverk (indirekt utsläpp)

Behandling i ett kommunalt eller annat externt reningsverk är en vanlig och oftast mycket bra lösning, men förutsätter förstås att tillskottet av industriavlopp inte påverkar behandlingen av övriga avloppsvatten negativt. Det får inte heller innebära att föroreningar hamnar i slammet och förs med detta till jordbruksmark. Eftersom det undersökta flödet därvid späds med avloppsvatten från många andra källor, säger resultatet inte så mycket om det enskilda delflödets nedbrytbarhet. Två testutformningar förekommer, aktivt slamtest i labbskala (kontinuerlig process), respektive Zahn-Wellenstestet.

5.2.4.1 AKTIVT SLAM-TEST

Detta test (EN ISO 11733 eller OECD 303A) kräver att laboratoriet har en aktivslamanläggning gående för prov och en för kontrollen, det blir därmed förhållandevis dyrt och inte så mycket använt annat än för processoptimering. DOC mäts i utflödet och daglig reduktion kan beräknas efter korrektion för den utspädning som följer av den kontinuerliga processen. Betydligt vanligare är Zahn-Wellenstestet.

5.2.4.2 ZAHN-WELLENS TEST⁴⁵

En annan metod som används för att värdera möjligheten att behandla biologiskt är ett enkelt satsvis test med aktivt slam, som används för att mäta reduktionen av organiskt material med biologisk nedbrytning och adsorption (=bioeliminering), (EN ISO 9888/OECD 302B), också kallad Zahn-Wellens test. Ympen här är betydligt kraftigare, 1000 mg/l och i en abiotisk kontroll bestäms förlusten av flyktiga ämnen. Med tretimmarsvärdet, DOC/COD-elimineringen efter tre timmar, uppskattas sorptionsprocesser. Det anses vara en nackdel att testet inte differentierar mellan adsorption och bionedbrytning.

Följande förhållanden skall alltid vara uppfyllda:

- Nivån för godkänt test skall nås inom 7 d
- Lagfasen får vara högst 3 d
- Högst 15 % av testmaterialet får avlägsnas innan biodegraderingen startar

80 % eliminering av COD/DOC på 7 dagar (korrigerat för den abiotiska kontrollen) anses vara ett tillräckligt kriterium för att visa att avloppsvattnet kan behandlas i ett kommunalt reningsverk. Ibland förlängs testet upp till 28 d för att man skall nå nedbrytningskurvans plåtå.

Inverkan av testets längd, av adaptering av inokulum, och av celltillväxtens påverkan på resultatet är under diskussion. Ympens adaptering har en klar effekt på nedbrytningskinetiken och därigenom testets varaktighet. Vill man simulera provets faktiska uppförande i avloppsbehandlingen är sådan lämplig. För en mer standardiserad jämförelse har man i allmänhet valt ett oadapterat slam från kommunalt reningsverk.

5.3 Bioackumulering

Metoder för att skatta mängden bioackumulerande material (PBS, potentiellt bioackumulerbar substans) kan delas upp i ett antal konventionella delsteg. Dessa summeras kort i tabell 5.3 och två av metoderna beskrivs i 5.3.2 – 5.3.4.

Liksom för nedbrytbarhet finns också alternativet att bestämma påverkan med test av kronisk toxicitet, som ett mått på bioackumuleringens möjliga effekter.

⁴⁵ OSPAR (2005). Degradability and liability to bioaccumulate – methods in whole effluent assessment, OSPAR Commission, London

Tabell 5.3. En sammanställning av olika metoder för bedömning av PBS i avloppsvatten⁴⁶

Delsteg	Metodvarianter	Kommentarer
Förbehandling	pH-justering till 2 neutraliserar fenoliska och karboxylföreningar, vilket medger extraktion till organiskt lösningsmedel	Kan försämra selektiviteten om ej bioackumulerbara föreningar extraheras och PBS överskattas. Medför kostnadsökning
	Filtrering för att avlägsna partikelbundna föreningar	Kan överdriva selektiviteten om biologiskt tillgängliga föreningar inte extraheras, och PBS underskattas. Medför kostnadsökning
Extraktionsmetoder	Vätske-vätske vari avloppsprovet extraheras med ett ej blandbart lösningsmedel som tar med både lösta och partikelbundna organiska föreningar	PBS kan överskattas eftersom förfarandet tar med allt. Vilka föreningar som extraheras beror på lösningsmedel, volymförhållanden och tid
	Fastfas kan använda ett Empore-filter eller -kolumn, varvid löst PBS överförs till C ₁₈ -föreningen på ytan. Denna biomimetiska metod extraherar starkt snarare än svagt bioackumulerande föreningar	Kan underskatta PBS eftersom partikelbundet material inte tas med. Emporefiltrets långa ekvilibreringsstid (två veckor) gör metoden opraktisk och leder till fördröjningar
	Semipermeabelt membran (SPMD) använder en polyetenslang fylld med ett organiskt lösningsmedel (eller konstgjord lipid)	PBS kan underskattas eftersom partikelbundet material inte tas med. Två veckors ekvilibreringsstid ger samma nackdelar som föregående metod
	Fastfas mikroextraktion (SPME) använder en polymerbelagd fiber för att extrahera lösta organiska föreningar. Denna biomimetiska (livshärmande) metod extraherar starkt snarare än svagt bioackumulerande föreningar	PBS kan underskattas eftersom partikelbundet material inte tas med. Ett dygns ekvilibreringsstid gör att metoden är praktisk och kostnadseffektiv. Lösningsmedel används inte och substansförluster kan undvikas om fibern används direkt i en GC. Troligen högre detektionströskel än vätskeextraktion
Förbehandling av extrakt	Rening av avloppsprovet är en förutsättning för prover som vätskeextraheras, särskilt om GC används till separationen. Detta kan åstadkommas med olika tekniker, t.ex. användning av adsorbenter som fluorisil, aktiv kiseldioxid och aluminiumoxid	Kan orsaka förlust av PBS
	Förkoncentrering erfordras för att optimera återvinning av PBS från stora lösningsmedelsvolymmer och möjliggöra detektion. Görs normalt genom indunstning i kväveatmosfär	Kan orsaka förlust av PBS, särskilt föreningar med viss flyktighet, och leda till låg återvinning
	Derivativering kan öka detektionsförmågan för föreningar som inte detekteras i ursprunglig form, t.ex. karboxylsyror	Kan orsaka förlust av PBS på grund av flyktighet eller nedbrytning, och därmed låg återvinning

⁴⁶ Efter Johnson, I & Watts, C (2001). Review of potential screening methods for the assessment of the persistence and bioaccumulation potential of effluents. Draft report to the Dept of Environment, transport and regions, UK

Separation	<i>Tunnskiktskromatografi (TLC)</i> är en form av vätskekromatografi med fast fas på ett plant bärmaterial	Snabb och kostnadseffektiv och med låga apparatkostnader i förhållande till HPLC. Kan var selektiv, då jonföreningar och aminer inte mäts. Kan inte automatiseras som GC eller HPLC
	<i>Högtrycks- eller högpresterande vätskekromatografi (HPLC)</i> separerar hydrofoba föreningar i vätskefasen i den tillämpning som gäller PBS. God selektivitet mot störande föreningar som lipider och humussyror under extraktion och förenig är nödvändig	Dyrare utrustning, men automatisering ger rimlig analyskostnad per prov
	<i>Gaskromatografi (GC)</i> separerar föreningar som blir flyktiga upp till ≤ 400 °C	Dyrare utrustning, men automatisering ger rimlig analyskostnad per prov. Föreningar med lågt ångtryck eller som är termiskt instabila kan inte analyseras med GC
Detektion	<i>Absorption av UV och synligt ljus.</i> Ofta i kombination med HPLC	Bred selektivitet men responsfaktorerna kan variera med flera storleksordningar, dvs. kvantitativ bestämning är inte möjlig
	<i>Flamjonisationsdetektor</i> är vanlig med GC	Universell detektering av organiska föreningar, men responsfaktorerna kan variera med flera storleksordningar, dvs. kvantitativ bestämning är inte möjlig
	<i>Masspektrometri</i> kan användas för att identifiera och kvantifiera okända PBS, särskilt värdefullt för tillämpning på avlopp	Flera joniseringsmetoder finns, med varierande känslighet och specificitet
	<i>Ångtrycksosmometri</i> mäter den totala molkoncentrationen av PBS och har använts utan föregående separation	Mycket bred selektivitet och känsligheten är tillräcklig för kvantifiering i avlopp men troligen inte i recipienten
	<i>Fluorescensdetektion</i> används med HPLC	Mycket känslig med fluorescerande föreningar, men behöver kombineras med andra metoder vid tillämpning på ett avloppsprov
	<i>Electroninfångning (ECD)</i> kan användas med GC	Mycket känslig detektering av organiska halogenföreningar

5.3.1 Biokoncentrering

Studier rörande bioackumulering i vattenmiljön kan utföras som biokoncentrationsförsök i vilka man med kemisk analys följer upptaget av ett ämne i organismer som exponeras i kontaminerat vatten. Vanligen eftersträvar man att ha en konstant halt av det aktuella ämnet i akvarievattnet. Om en konstant halt i organismen (jämvikt) uppnås efter en tids exponering kan man bestämma den s.k. biokoncentrationsfaktorn (BCF) för ämnet som kvoten mellan halten i organismen och halten i vattnet. BCF är en kvantitativ uppskattning av ett ämnes bioackumulerande förmåga. På grund av metaboliska processer får man ingen konstant halt i organismen för

vissa ämnen och då kan inget BCF-värde beräknas. Hydrofobiciteten kan också leda till underskattning vid analys i vattenfas.

Bestämning av BCF för ett ämne genom ett biologiskt test är förhållandevis arbetskrävande. Man har dock konstaterat att det finns en god korrelation mellan BCF-värdet för ett organiskt ämne och dess fördelningskonstant (K) i ett tvåfas vätskesystem. Genom att K relativt lätt kan bestämmas (som kvoten mellan koncentrationen i ett opolärt lösningsmedel och koncentrationen i ett polärt lösningsmedel vid jämvikt i ett tvåfssystem) kan också BCF beräknas. Vanligen bestäms K för tvåfssystemet n-oktanol/vatten (K_{ow})

5.3.2 Vätskeextraktion följt av bestämning med TLC eller HPLC

Efter en vätske/vätskeextraktion av avloppsvattenprovet separeras de ingående komponenterna efter lipofilitetsgrad med tunnskikt-kromatografi (Adolfsson-Erici & Wahlberg 1992, Renberg et al. 1985)^{47,48}. De mest lipofila fraktionerna (som kan antas innehålla potentiellt bioackumulerbara ämnen) kan sedan isoleras och karakteriseras med t ex gaskromatografi i relation till standardsubstanser med känd fördelning i systemet n-oktanol/vatten (K_{ow}).

Ett cyklohexanextrakt av det stabiliserade provet separeras på tunnskikt tillsammans med en referensblandning av substanser med känd K_{ow} . Plattan elueras med en aceton-vattenblandning varvid ämnena separeras efter fettlöslighet. De mest lipofila fraktionerna, med $K_{ow} > 1000$, isoleras och kvantifieras med gaskromatografi. Om provets innehåll av bioackumulerande ämnen är lågt kan ympmaterialet i stabiliseringsstestet störa. Hynning⁴⁹ vidareutvecklade metoden 1996 med hjälp av modernare kromatografiutrustning. Extraktet fraktioneras med semi-preparativ HPLC, och identifieras med GC-MS följt av kvantifiering med GC-FID. Vid jämförelser har överensstämmelsen mellan de två varianterna varit tillfredsställande.

5.3.3 EGOM

En snabbare screeningmetod mäter hela den organiska extrakthalten som EGOM, (extraherbart och gaskromatografseparerat organiskt material), med oktadekan (C_{18}) eller dodekan (C_{20}) som standard. Om mängden EGOM motiverar det kan en fullständig PBS-bestämning (med kromatografisk separering) göras i ett andra steg. Härigenom sparas tid och pengar i fall där PBS är försumbart. Svenska erfarenheter

⁴⁷ Naturvårdsverket (1992). Adolfsson-Erici, M & Wahlberg, C, Extraherbart gaskromatograferbart organiskt material (EGOM), extraherbart organiskt bunden halogen (EOX), potentiellt bioackumulerbara substanser (PBS). Appendix, rapport 4103

⁴⁸ Renberg, L, Sundström, SG, Rosén-Olofsson, AC (1985) The determination of partition coefficients of organic compounds in technical products and wastewaters for the estimation of their bioaccumulation potential using reversed phase thin layer chromatography. *Toxicology & Environm. Chem.* **10**, 333 - 349

⁴⁹ Hynning, PÅ (1996). Separation, identification and quantification of components of industrial effluents wit bioconcentration potential. *Wat. Res.* **30**(5), 1103-1108

redovisas t.ex. i Tarkpea et al. (1998)⁵⁰ och i STORK-rapporten⁵¹. EGOM kan därvid variera mellan en försumbar del och upp till större delen av PBS, dvs. endast ett lågt EGOM kan fria från närmare undersökning.

5.3.4 Mikroextraktion i fast fas med gaskromatografi

En variant som utvecklats det senaste decenniet är Solid Phase Microextraction, SPME: De bioackumulerande ämnena extraheras med en fiber som är belagd med en polymer med lipidliknande egenskaper. Metoden är snabbare än extraktionsmetoden, och kan anses biomimetisk (dvs. livshärmande), åtminstone i jämförelse med vätskeextraktionsmetoden. Jämförelser i OSPAR-projektet⁵² visade dock att också extraktionsmetoden har sådana egenskaper, och SPME hade ännu inte tillräcklig precision för rutinarbete.

En SPME-fiber jämviktas i ett avloppsprov i 24 timmar. Analysen tillgår så att fibern förs in i injektionsporten av en gaskromatograf, och med en masspektrometer som detektor bestäms den totala koncentrationen av PBS, men MS kan också användas för identifiering och kvantifiering av enskilda bioackumulerande ämnen (deMaagd 2000)⁵³. Som extern standard används 2,3,5-triklortoluen, felet som ett antagande av konstant responsfaktor för alla PBS-ämnen innebär har visats vara relativt litet.

5.3.5 Metodjämförelse

En kemisk metod som skall bedöma potentiellt bioackumulerande ämnen (PBS) måste omfatta så många organiska föreningar som möjligt, och både ämnen i lösning och sådana som adsorberats till partiklar. Nyckelfaktorer (se tabell 5.3) är

- Metodens selektivitet
- Är selektiviteten låg kan störande material (dvs. sådana ämnen som inte är bioackumulerande) också extraheras och mätas, vilket ger en överskattning av mängden PBS. Omvänt kan hög selektivitet leda till en underskattning av mängden PBS.
- Hur mycket av dessa föreningar, som återvinns i separationsprocessen
- Metoderna kan leda till förluster av flyktiga ämnen, eller svårseparerade emulsioner. Eftersom avloppsvattnets komponenter ofta är okända behöver många ämnen med olika egenskaper återvinnas kvantitativt för att metoden skall vara användbar.
- Detektionströskel vid kvantifiering.

⁵⁰ Tarkpea, M, Andrén, C, Eklund, B, Gravenfors, E, Kukulska, Z (1998). A biological and chemical characterisation strategy for small and medium-sized industries connected to municipal sewage treatment plants. *Eur. Tox. Chem.* **17**(29), 234-250

⁵¹ Naturvårdsverket (1996). Karakterisering av utsläpp från kemiindustrin, STORK-projektet. Rapport 4621

⁵² OSPAR (2004). OSPAR practical study 2003 on whole effluent assessment. OSPAR Commission, London

⁵³ deMaagd, PGJ (2000). Bioaccumulation tests applied in Whole Effluent Assessment: A review. *Environ. Toxicol. Chem.* **19**(1), 25-35

Medan SPME alltså mäter PBS i den lösta fraktionen, ger vätskeextraktionsmetoden ett mått på både löst och partikelbundet material. Båda kan därför ha en roll i bedömningen av PBS-inverkan över tiden i en recipient. Vätskeextraktionen ger också ett värde på halten i provet medan SPME endast ger ett relativt värde. Ett gemensamt metodfel är att ingendera metoden utesluter ämnen på grund av molekylstorlek, föreningar med en effektiv diameter $> 10 \text{ \AA}$ anses inte kunna passera biologiska membraner, men extraheras med dessa metoder.

5.4 Biologiska toxicitetstester

Testorganismen exponeras för olika koncentrationer av avloppsvattnet och odlas med normalt tillväxtmedium upp till flera generationer. Resultatet kan presenteras som EC(eller LC)50, EC20, EC10, LOEC eller NOEC, beroende på det aktuella behovet eller metodens förutsättningar. Tester som används som underlag för riskbedömningar skall utföras på ett kvalitetsmässigt acceptabelt sätt, vilket innebär att laboratoriet i fråga måste följa ett kvalitetssystem, som grundas på antingen ISO 17025 eller OECD:s riktlinjer för Good Laboratory Practice (GLP).

5.4.1 Korttidstester

Det finns ett stort antal tester, varav många är standardiserade (se vidare 8.3). Här ges bara några korta exempel.

5.4.1.1 BIOLUMINISERANDE BAKTERIER ISO 11348

Testet mäter hämning av luminiscensen från den självlysande marina bakterien *Vibrio fischeri*. Ljusstyrkan avläses vid 0, 5 och 15 minuter och rapporteras som exv. EC50, 15 min. Särskilt lämpligt som screeningtest och för att följa variationer inom eller mellan olika dygn. Kommersiella utformningar är bl.a. Microtox och Lumistox.

5.4.1.2 TOXICITET FÖR SÖTVATTENSALGER ISO 8692

Tillväxthämning mäts hos planktonisk grönalg, vanligen *Pseudokirchneriella subcapitata* (tidigare *Selenastrum capricornutum* och *Raphidocelis subcapitata*) eller *Desmodesmus subspicatus* (tidigare *Scenedesmus subspicatus*). Tillväxthastigheten mäts som ökat cellantal, dvs. med cellräkning, eller vanligare turbidimetriskt med spektrofotometer eller fluorimetriskt med en fluorimeter efter 72 timmars exponering.

Odlingen sker i rör eller kolv med provlösning och näringslösning. pH skall justeras till 7 och temperaturen till 23°C. Belysning 6000 – 10000 lux. Ympning till c:a 10^3 celler/l. En störning som iakttagits är att salthalten i näringslösningen i kombination med lösningen från ett nedbrytningsförsök kan vara hämmande. Lägre näringskoncentration kan krävas, men då blir istället buffringen sämre. Eftersom algen är beroende av ljus kan också partikelrika eller färgade vatten vara begränsande (jfr 5.4.1.4).

5.4.1.3 TOXICITET FÖR BRACKVATTEN- OCH MARINA ALGER ISO 10253

Flera arter förekommer, vanligt använda planktoniska arter är *Phaeodactylum tri-cornutum* och *Skeletonema costatum*. Metodiken är som för sötvattensalgerna och tillväxten mäts t.ex. fluorimetriskt en gång om dagen i 72 tim.

I Sverige har utvecklats en metod (bl.a. Eklund (2005)⁵⁴) med makroalgen *Ceramium tenuicorne* som numera är en ISO-standard 10710. Det finns två kloner av arten, en lämplig för Västkustens vatten, och en för brackvatten (Östersjön). Hämnings av tillväxthastigheten mäts som en minskning i längdtillväxt jämfört med kontrollen under en vecka. Testet sker i 22°C, belysning $70 \pm 10 \%$ $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ och en dygnsrytm om 14 timmar ljus och 10 timmar mörker.

5.4.1.4 HÖGRE VÄXTER

Lemna minor

SS 02 82 13, ISO/CD 20079

Plantor av andmat får växa som monokultur vid 25°C. Tillväxt av biomassa i olika koncentrationer av avloppsvatten mäts efter 7 d. *Lemna* fungerar i grumliga eller färgade vatten och kan då ersätta alger.

Rotutveckling hos gul lök (Allium cepa) Fiskesjö (1985)⁵⁵

Jämnstora lökar får gro i provrör med testvätskor, vilka byts dagligen. Mätning av rotlängder sker dag 3. Medelvärdet för varje koncentration beräknas som procent av kontrollen rotlängd. Ur en kurva över dessa värden kan EC-värden beräknas.

5.4.1.5 AKUT TOXICITET FÖR KRÄFTDJUR

Beroende på recipient använder man olika arter, i Sverige vanligast *Ceriodaphnia* och *Nitocra*

Arter för tester i sötvatten:

Daphnia magna

SS 02 81 80

Ceriodaphnia dubia

SS 28 314

Testorganismen exponeras under 48 timmar för valda koncentrationer (funna genom pilottest) av provet vid $25 \pm 1^\circ\text{C}$. Antal döda och överlevande djur noteras efter 24 och 48 timmar. Syrgashalt och pH mäts vid start och efter 48 timmar. Störningar kan uppstå vid test av avloppsvatten med kraftig syretäring, syrgashalten bör vara över 40 % av mättnadsvärdet.

Arter för tester i bräckt och salt vatten:

Acartia tonsa

ISO 14669

Nitocra spinipes

SS 02 81 06, ISO 14669

⁵⁴ Bruno, E, & Eklund, B (2003). Two new growth inhibition tests with the filamentous algae *Ceramium strictum* and *C. tenuicorne* (Rhodophyta). *Environmental Pollution* **125**, 287-293.

Eklund, B (2005) Development of growth inhibition test with the marine and brackish water red alga *Ceramium tenuicorne*. *Marine Pollution Bulletin* **50**, 921-930.

⁵⁵ Fiskesjö, G (1985), The Allium test as a standard in environmental monitoring. *Hereditas* **102**, 99-112

Testorganismen exponeras under 96 timmar för valda koncentrationer (funna genom pilottest) av provet i provrör vid $20 \pm 1^\circ\text{C}$. Antal döda och överlevande djur noteras vid 24, 48 och 96 timmar. Syrgashalt och pH mäts vid tiden 0, 24, 48 och 96 timmar. Störningar kan uppstå vid test av avloppsvatten med kraftig syretäring, syrgashalten bör vara över 40 % av mättnadsvärdet.

5.4.1.6 AKUT TOXICITET FÖR FISK

Sebrafisk (*Brachydanio rerio*) ISO 15088, 12890

Metoden mäter mediantiden för kläckning av ägg samt dödligheten för ägg och yngel. Exponering i petriskålar och avläsning av andel utkläckta yngel två gånger/d, respektive andel döda ägg eller yngel 1 gång/d. Varaktighet tills minst 90 % har dött, c:a två veckor. Vattenbyte 1 gång/d. Störning är låg syrehalt pga. mycket syretärande substans, vilket motverkas genom försiktig luftning.

Djuretiska hänsyn har medfört att tester med ryggradsdjur och därmed också fiskar har blivit omgärdade med restriktioner. Akuttester med fiskar där man inte mäter annat än dödlighet har därmed kommit att kritiseras hårt. Som alternativ har utvecklats embryotester (FET; Fish Embryo Test) med sebrafisk, som både minskar antalet försöksdjur, men också inkluderar mätningar av betydligt subtilare slag (men fortfarande knappast etiskt oproblematiske) än dödlighet under 2 dygn (hjärtfrekvens, missbildningar, etc.). Utvärderingar har visat att denna metod (OECD 212) med fördel kan ersätta konventionella akuttester (Lammer et al. 2009)⁵⁶. Detta testprotokoll har även visat sig fungera bra också för vår inhemska storspigg (*Gasterosteus aculeatus*) i bräckt och marint vatten om exponeringstiden ökas med ett dygn.

Sebrafisk (*Brachydanio rerio*) OECD 212
Storspigg (*Gasterosteus aculeatus*) Ericsson (2007)⁵⁷

Se mer om storspigg som testorganism nedan under 5.4.2.2.

5.4.2 Subkronisk och kronisk toxicitet

Med kronisk toxicitet avses i strikt mening tester som inkluderar respektive försöksorganisms hela livscykel. Erfarenhetsmässigt har dock vissa utvecklingsstadier eller biologiska funktioner visat sig utgöra de känsligaste stadierna (svagaste länkar i utvecklingskedjan) och kan ersätta livscykelförsök med subkroniska tester och med subletala effekter. Detta innebär både tidsvinster och kostnadsfördelar. De subletala effekter som mäts (se nedan) bedöms ha en ekologisk relevans, dvs. på kortare eller längre sikt ha betydelse för såväl individens som populationens överlevnadsförmåga i miljön.

⁵⁶ Lammer, E, Carr, GJ, Wendeler, K, Rawlings, JM, Belanger, SE & Braunbeck, T (2009). Is the Fish Embryo Toxicity Test (FET) with the zebra fish (*Danio rerio*) a potential alternative for the fish acute toxicity test? *Comparative Biochemistry and Physiology C*, **149**, 196-209

⁵⁷ Eriksson, K (2007). Method Development: Embryo Testing with the Threespined stickleback (*Gasterosteus aculeatus*). Department of Applied Environmental Science, Stockholm University, Stockholm

5.4.2.1 LÅNGTIDSTESTER MED ALGER OCH KRÄFTDJUR

Med anpassade koncentrationer kan ”akutmetoderna” med alg användas i varje fall för bestämning av subkronisk toxicitet eftersom man mäter över flera generationer. Beroende på val av koncentrationsintervall samt utfall av testning kan antingen EC_x eller NOEC/LOEC beräknas.

För kräftdjur finns olika alternativ att mäta subkronisk och kronisk toxicitet. Arter för testning i sötvattenmiljö:

<i>Daphnia magna</i>	OECD 211 (21 dagars test)
<i>Ceriodaphnia dubia</i>	ISO 20665 (2006) (7 dagars test)

För testning i brackvatten och marin miljö finns för närvarande inget standardiserat subkroniskt eller kroniskt test med kräftdjur. Inom OECD finns sedan en tid tillbaka ett förslag till ett ca 3-veckors utvecklings- och reproduktionstest med harpacticoida copepoder (OECD, 2009). Denna metod följer djurens individuella utveckling och kan användas för att antingen studera kräftdjurens hela livscykel (Dahl et al. 2009)⁵⁸ eller endast utvecklingsfasen från nyfödd larv till tidiga juvenila stadier (Dahl & Breitholtz 2008).⁵⁹ Även om metoden för närvarande valideras med avseende på den amerikanska arten *Amphiascus tenuiremis* kan den användas för den i Sverige vanligt förekommande arten *Nitocra spinipes* (samma ref.).

Ett enklare alternativ till detta test har utvecklats av ITM (Institutionen för tillämpad miljövetenskap) vid Stockholms Universitet⁶⁰ och använts i ett stort antal vetenskapliga undersökningar och industrirelaterade karakteriseringar. Testet kan liksom förslaget till OECD-test användas för att studera kräftdjurens hela livscykel som tar c:a 3 veckor eller endast den c:a veckolånga utvecklingsfasen från nyfödd larv till tidiga juvenila stadier. Efter 6-8 dagars exponering har ca 50 % av kontroldjuren övergått till ett copepodit-stadium. Kvoten mellan antalet copepoditer och totala antalet djur som finns i slutet av testet i varje replikat beräknas och utgör en subkronisk effektvariabel som benämns larvutvecklingskvot, LDR (Breitholtz et al. 2007)⁶¹.

5.4.2.2 LÅNGTIDSTESTER MED FISK

Sebrafisken har lång tradition som testorganism, särskilt i Europa, och många standardmetoder finns utvecklade tack vare att arten är lätt att hålla i laboratoriemiljö

⁵⁸ Dahl, U, Rubio-Lind, C, Gorokhova, E, Eklund, B & Breitholtz, M (2009) Food Quality effects on copepods in toxicity tests. *Ecotoxicol. Environ. Safety* **72**, 351-357

⁵⁹ Dahl, U & Breitholtz, M (2008). Integrating individual ecdysteroid content and growth-related stressor endpoints to assess toxicity in a benthic harpacticoid copepod. *Aquat. Toxicol.* **88**, 191-199

⁶⁰ Breitholtz, M, & Bengtsson, B-E (2001). Oestrogens have no hormonal effect on the development and reproduction of the harpacticoid copepod *Nitocra spinipes*. *Mar. Pollut. Bull.* **42**, 879-886

⁶¹ Breitholtz, M, Ricklund, N, Bengtsson, B-E & Persson, NJ (2007). Silica gel as a particulate carrier of poorly water-soluble substances in aquatic toxicity testing. *Aquat. Toxicol.* **82**, 251-264

och har använts av många ekotoxikologer genom åren. Den enda stora nackdelen med arten är att den är tropisk och saknar ekologisk relevans för miljörer i Sverige och Europa. På senare tid har storspiggan (*Gasterosteus aculeatus*) kommit i fokus som ett lämpligt komplement, eftersom den finns i hela Europa (och i stort sett i hela norra hemisfären) i såväl söt, bräckt som marin miljö (Katsidiaki et al 2007)⁶². Dessutom har den ett par ytterligare fördelar framför andra fiskarter som används inom ekotoxikologin, nämligen att den kan detektera olika typer av endokrina störningar, inklusive antiandrogener genom förekomsten av det artspecifika limproteinet spiggin (utsöndras av hanen i samband med bobyggnad) och en DNA-markör som medger molekylär könsbestämning. Hittills genomförda *in vivo/in vitro* och fältstudier visar på artens stora potential som testart (Björkblom et al. 2008)⁶³, och förslag till nya OECD-standarder (Test Guidelines) är under utredning.

Toxicitet för embryoner och yngel – Brachydanio rerio SS 02 81 93

Provningsföregås av bestämning av den akuta toxiciteten gentemot sebrafisk som LC50 96 tim. På basis av de resultaten väljs koncentrationer av testvattnet och nybefruktade ägg exponeras tills 90 % av äggen eller de nykläckta ynglen dött i samtliga provlösningar, vilket beräknas ta ca två veckor. Dödligheten noteras efter 24, 28, 72 och 96 timmar i samband med vattenbyte (semistatisk metod). Mediantid för kläckning och överlevnad i olika koncentrationer beräknas, liksom NOEC och LOEC. Störningar kan uppstå vid test av avloppsvatten med kraftig syretäring. Syrgashalten skall vara minst 40 % av mättnadsvärdet, varför försiktig luftning kan tillåtas.

För bräckt och marin miljö används istället storspigg (*Gasterosteus aculeatus*). I avvaktan på specifika standarder för storspigg kan befintliga standarder för t ex sebrafisk användas efter viss modifikation av t ex salthalt och testtemperatur.

Tillväxt och biokemiska, fysiologiska och histopatologiska biomarkörer.

Dessa metoder (Andersson et al. 1988, Ericsson et al. 1998)^{64,65} kan användas med sebrafisk i avloppsprov, men kommer oftast till användning i samband med försök i recipienten såsom provfiske, burförsök, men också i modellekosystem⁶⁶. Exempel på studerade arter är tånglake, regnbåge och abborre och på senare tid även storspigg. Det är viktigt att tillräckligt många individer ingår i försöks- och referens-

⁶² Katsidiaki, I, Sanders, M, Sebire, M, Nagae, M, Soyano, K & Scott, A (2007). Three-spined stickleback: an emerging model in environmental endocrine disruption. *Environm. Sci.* 14, 263-283

⁶³ Björkblom, A, Salste, L, Katsiadaki, I, Wiklund, T & Kronberg, L (2008). Detection of estrogenic activity in municipal wastewater effluent using primary cell cultures from three-spined stickleback and chemical analysis. *Chemosphere* 73, 1064-1070

⁶⁴ Andersson, T, Förllin, L, Härdig, J & Larsson, Å (1988) Physiological disturbances in fish living in coastal water polluted with bleached kraft mill effluents. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.* 45, 1525-1536

⁶⁵ Ericsson, G, Lindesjö, E & Balk, L (1998). DNA adducts and histopathological lesions in perch (*Perca fluviatilis*) and northern pike (*Esox lucius*) along a polycyclic aromatic hydrocarbon gradient on the Swedish coastline of the Baltic Sea. *Can J. Fish. Aquat. Sci.* 55, 815-824

⁶⁶ Naturvårdsverket (1997). Miljöpåverkan av skogsindustriella utsläpp. rapport 4695

grupper för att säkerställa statistisk signifikans, något som visat sig svårt för större fiskarter. Tre (eller fler) provkoncentrationer bör användas för att underlätta tolkning av resultaten.

5.5 Andra biologiska effekter

5.5.1 Endokrina effekter

Vid en genomgång i OSPAR:s regi 2003⁶⁷ konstaterades att många metoder finns beskrivna i den vetenskapliga litteraturen, men ännu så länge fanns inga standardiserade förfaranden. I översikten identifierades tre metoder som lämpliga att vidareutveckla för testning av avloppsvatten. *In vitro*-metoder har begränsningar på grund av att de inte kan redovisa de komplexa mekanismerna i ett *in vivo*-system. Att extrapolera från ett *in vitro*-test kan ge falska negativa resultat på grund av detta. Skillnader mellan de endokrina systemen hos olika arter gör att extrapolering blir diskutabel också på organismnivå.

5.5.1.1 JÄST

Jästcellsmetoder för bestämning av östrogena respektive androgena effekter finns beskrivna av Routledge & Sumpter⁶⁸ och Sohoni & Sumpter⁶⁹. Jästceller som försetts med gener för mänskliga receptorer för östrogener (metodvarianten YES – estrogen) respektive androgener (YAS – androgen) (målstrukturer i celler) och med en markör gen inkuberas tillsammans med extrakt av miljöprov. Ämnen som binder in till receptorgen medför att enzymet β -galaktosidas bildas, vilket i sin tur gör att substratet bildar en färgad produkt som kan mätas spektrofotometriskt.

5.5.1.2 FISK

Ett flertal *in vivo* fisktester finns beskrivna, där man använder mått som dödlighet, uppträdande, tillväxt, utveckling och reproduktion. OECD har rekommenderat separata metoder för ung och vuxen fisk. Vid exponering bör också positiva och negativa kontroller säkerställa att metoden fungerar som avsett. Flera metoder för mätning av induktion av vitellogenin finns beskrivna, liksom för könsförändringar, m.m. (Katsidiaki et al. 2007, Hahlbeck et al. 2004, Sebire et al. 2008)^{70,71,72}. Se

⁶⁷ OSPAR (2003). Survey of the use of effect-related methods to assess and monitor wastewater discharges. OSPAR Commission, London

⁶⁸ Routledge, EJ & JH Sumpter (1996). Estrogenic activity of surfactants and some of their degradation products assessed using a recombinant yeast screen. *Environ. Toxicol. Chem.* **6**, 3280-3288

⁶⁹ Sohoni, P & Sumpter JP (1998). Several environmental estrogens are also anti-androgens. *J Endocrinol* **158**, 327-229

⁷⁰ Katsidiaki, I, Sanders, M, Sebire, M, Nagae, M, Soyano, K & Scott, A (2007). Three-spined stickleback: an emerging model in environmental endocrine disruption. *Environm. Sci.* **14**, 263-283

⁷¹ Hahlbeck, E, Katsidiaki, I, Mayer, I, Adolfsson-Erici, M, James, J & Bengtsson, B-E (2004). The juvenile three-spined stickleback (*Gasterosteus aculeatus* L) as a model organism for endocrine disruption II – kidney hypertrophy, vitellogenin and spiggin induction. *Aquat. Toxicol.* **70**, 311-326

⁷² Sebire, M, Allen, M, Bersuder, P & Katsidiaki, I (2008). The model anti-androgen flutamide suppresses the expression of typical male stickleback reproductive behaviour. *Aquatic Toxicology* **90**, 37-47

även avsnittet om storspigg ovan där god korrelation mellan fält- och labdata har konstaterats och lovande teknik är på väg att tas fram, särskilt vad avser endokrina effektstudier.

5.5.2 Mutagenicitet

En översikt gjordes också på mutagentester inom ramen för OSPAR:s WEA-arbete 2002⁷³. I dessa sammanhang har framför allt Ames- och *umuC*-testerna använts (men det finns flera andra varianter (Reifferscheid et al. 2005)⁷⁴), eftersom tester med eukaryota celler är mer tidskrävande. Man drar slutsatsen att påvisad gentoxicitet kan visa att människor är utsatta för miljöfarliga ämnen, men att man måste vara försiktig med tolkningen.

5.5.2.1 AMES TEST ISO 16240

Testet registrerar återmutationer till histidinoberoende (his- till his+) hos *Salmonella typhimurium*. Enstaka prov med Ames-test gjordes under STORK-kampanjen, men de svenska KIU-erfarenheterna är begränsade. Enligt den nämnda översikten är senare utvecklade test snabbare och mer lättanvända.

5.5.2.2 UMUC-TEST ISO 13829

Testet registrerar ämnen som förorsakar stopp i replikationen och därför inducerar ett DNA-reparationssystem. Testet använder en genetiskt modifierad *Salmonella typhimurium*. *umuC* är kopplad till en rapportgen som om aktiverad genom gentoxisk inverkan bildar β -galaktosidas, vilket kan kvantifieras fotometriskt, rationellt med plattläsare.

5.5.3 Andra biokemiska tester

5.5.3.1 EROD ISO 23893

7-etoxy resorufin-o-deacetylaser induceras i leverns avgiftningssystem hos fisk som exponeras för toxiska utsläpp. Mikrosomer renprepareras från ett leverhomogenat och med etoxyresorufin som substrat mäts produktionen av resorufin spektrofotometriskt. Det har ifrågasatts om EROD utgör en god exponeringsindikator för ”moderna” (varmed torde förstås reningsverksbehandlade) avloppsvatten från skogsindustri.⁷⁵

⁷³ OSPAR (2002). Survey on genotoxicity test methods for the evaluation of wastewater within whole effluent assessment, OSPAR Commission, London

⁷⁴ Reifferscheid, G, Arndt, C & Schmid, C (2005) Further development of the β -lactamase MutaGen assay and evaluation by comparison with Ames fluctuation tests and the *umu* test. *Env. Molec. Mutagen.* **46**, 126-139

⁷⁵ Naturvårdsverket (1997). Miljöpåverkan av skogsindustriella utsläpp. Rapport 4695

5.6 Toxicitet för mikroorganismer i reningsverk

Slamorganismerna i biologiska reningssteg i kommunala och industriella reningsverk är mer eller mindre känsliga för kemiska ämnen i avloppsvattnen. För att säkerställa att slammet fungerar i ett nedbrytningsförsök är det därför nödvändigt att göra separata riskanalyser för slamorganismer.

Med hänsyn till de relativa korta uppehållstiderna för avloppsvatten i reningsverk är testerna i regel kortvariga med mättider på enstaka timmar. Toxicitetstesterna på slamorganismer har olika känslighet. Även om känsligheten kan rangordnas för de olika testerna, så kan mindre känsliga metoder användas om de passar den verkliga situationen bäst.

5.6.1 Hämning av slamorganismer

Rekommenderade metoder anges i fallande känslighetsskala:

5.6.1.1 NITRIFIKATIONSHÄMNING ISO 9509

Hämning av nitrifikationens två steg mäts jämfört med rent vatten. Försöket kräver kraftig luftning på skakbord, metoden kan alltså inte användas för flyktiga föreningar. Efter 4 timmar filtreras provet och analyseras på ammonium och nitrat. EC20 = 20 % eller EC50 = 40 % har ansetts vara en acceptabel hämning.

I Naturvårdsverkets kvävereningsprojekt på 90-talet utvecklades ett snabbt screeningtest för nitrifikationshämning (Rapport 4424, 1995) som ett bra komplement till standardmetoden.⁷⁶

5.6.1.2 TILLVÄXTHÄMNING AV *PSEUDOMONAS PUTIDA* ISO 10712

P. putida odlas i 16 h och bakterieväxten avläses turbidimetriskt.

5.6.1.3 RESPIRATIONSHÄMNING ISO 8192

Hämning av aktivslambakteriernas andning mäts som reduktionen i syreförbrukning jämfört med referenskemikalien 3,5-diklorfenol. Som ymp används aktivt slam från ett reningsverk med låg industribelastning. Syrgashalten mäts i BOD-flaskor var 30:e minut i 3 timmar och eventuell hämning beräknas med vatten som nollprov. Även här har EC20 = 20 % ansetts vara gränsen för vad som kan accepteras (dvs. högre inblandning som ger denna hämning är acceptabel, Svenskt Vatten P95).

Bakteriell bioluminiscenshämning (5.4.1.1) är inte en relevant testmetod för bedömning av effekter på slamorganismer och bör inte förekomma för detta ändamål.

⁷⁶ Naturvårdsverket (1995). Screeningmetod för nitrifikationshämning vid drift av kommunala reningsverk. Rapport 4424

5.7 Kemisk analys. TIE

Förteckningen över kemiska och fysikaliska analyser i tabell 8.1 upptar huvudsakligen konventionella miljövariabler och metaller utöver bioackumulerbarheten, som ju också är en kemisk analys i sin enklaste form. Även dessa analyser kan emellertid vara mycket klargörande för en iakttagen effekt. Ett bra hjälpmedel som kan spara in en del biologiska tester är som nämnt tidigare toxicitetsidentifiering⁷⁷ (TIE), vilket ger en ordnad arbetsgång för att möjliggöra fastställande av kemiska orsaker till akuttoxiska effekter.

TIE delas in i tre faser, I karakterisering, II identifiering och III konfirmering. I den första fasen sker en grov karakterisering av provet med hjälp av toxicitetstester, som visar ungefär vilka grupper av ämnen som ger upphov till den toxiska effekten. I den andra fasen identifierar man misstänkta substanser med hjälp av kemisk analys och i den tredje bekräftar man misstankarna.

Vid karakteriseringen testas prov obehandlad och behandlat med pH-justering, luftning, jonbyte, komplexbindning, osv. varigenom man får en uppfattning om vilka ämnesgrupper som kan vara orsaken till effekten. I den andra fasen kan man analysera direkt om det finns anledning att misstänka polära ämnen som metaller eller ammoniak (inte en ovanlig orsak till toxiska effekter), eller fraktionera provet med t.ex. HPLC om det snarare är opolära substanser man skall söka. Fraktioner med toxisk verkan analyseras med GC-MS eller annan lämplig teknik, men här kan det vara svårt att nå fram till en entydig identifiering med rimlig arbetsinsats. I den tredje fasen kan man bl.a. undersöka hur väl koncentrationen av en identifierad substans korrelerar med effekten.

TIE kan vara relativt arbetsintensiv och därmed kostsam, men tillämpad på ett industriellt avloppsvatten, med förhållandevis känd kemi, kan metodiken vara ett bra tillskott.

5.8 Recipientundersökningar

Recipientundersökningar görs fortlöpande i vattenvårdsförbundens regi och inom ramen för ett antal föreskrifter (bl.a. AR 86:3, NFS 2008:1, NS 2006:11, NV handbok 2007:4) och skapar en kunskapsbank som kan komma till nytta också vid karakteriseringen av ett enskilt utsläpp. Här talar vi dock om riktade recipientundersökningar som görs för att belysa effekterna av sådant utsläpp, snarare än att beskriva recipientens hälsoläge i stort.

⁷⁷ USEPA (1991b). Methods for aquatic toxicity identification evaluations. Phase I Toxicity characterization procedures, 2nd ed.;

USEPA (1993a). Methods for aquatic toxicity identification evaluations. Phase II Toxicity identification procedures for samples exhibiting acute and chronic toxicity;

USEPA (1993b). Methods for aquatic toxicity identification evaluations. Phase III Toxicity confirmation procedures for samples exhibiting acute and chronic toxicity

I ett internationellt perspektiv har vårt land unika vattenmiljöförhållanden som bara i viss utsträckning delas av våra grannländer runt Östersjön. Detta gäller i synnerhet Östersjöns salthaltsgradient, från i det närmaste nära sötvattenlika förhållanden i norra Bottenviken till rent marina förhållanden på västkusten. Östersjöns ekosystem är mycket ungt och präglas i stor utsträckning av en blandning av marina och limniska organismer som i olika utsträckning kan bemästra salthaltsgradienten längs vår kust. Egentliga östersjöorganismer saknas och det krävs att vi kan förut säga effekter av t ex avloppsvatten på såväl marina som limniska organismer som lever i för låg resp. för hög salthalt i Östersjöns miljö. Även våra limniska miljöer är relativt ovanliga, särskilt i ett EU-perspektiv. Detta innebär även att frågeställningar, hotbilder och arbetsmetoder får nationella särdrag genom att vi måste använda organismer och metoder som är relevanta för våra egna förhållanden. Härav förstås att metoder som använder svenska arter, som är representativa för olika miljöer och olika nivå i näringskedjan, bör komma till användning för att verifiera eller förfina miljöriskanalysen.

I diskussioner i början av 2000-talet betonades synpunkten att komplettering med en recipientundersökning kan förbättra miljöriskanalysens säkerhet avsevärt. Samtidigt innebär detta hantering av nya osäkerhetsfaktorer. Positivt är förstås att göra undersökningar på den djurvärld som utsätts för utsläppet, men man måste då säkerställa att de undersökta djuren just representerar dessa mottagare, fiske behöver ske när arter är stationära, vilket inte alltid har skett. Provpopulationen behöver vara tillräckligt stor för att ge statistisk säkerhet, ett referensområde som inte är stört vare sig av detta utsläpp eller av andra behöver finnas, och i det skall tillräckligt många individer av samma ålder kunna fångas vid samma fisketillfälle. I flera tillståndsärenden har brister i någon eller några av dessa faktorer försvårat eller omöjliggjort tolkningen. Ett exempel redovisas i 6.5. Ett problem kan också vara den förlängning av provningsprocessen som behov av förnyad fångst vid rätt årstid ett följande år kan innebära. Dessa problem till trots, så finns det väletablerade undersökningstekniker⁷⁸, som kan anses svara mot ett tredje steg i undersökningssekvensen, när ett sådant är motiverat. Läsaren hänvisas till separata handböcker för närmare anvisningar, här ges bara en kortfattad beskrivning.

PEC kan bestämmas noggrannare med strömningsmätningar för att fastställa utsläppplymns utbredning och spädning i recipienten. Det är möjligt att analysera enskilda komponenter i avloppsvattnet i recipienten och därmed kunna göra riskanalyser för enskilda, särskilt riskfyllda komponenter i avloppsvattnet. En bättre bestämning av PNEC kan man få genom att studera organismer i recipienten i separata undersökningar eller med hjälp av löpande kontrollprogram.

Recipientundersökningar görs genom provtagning av bottnar (t.ex. med en s.k. Ekmanhämtare). Effekter på bottenfaunan studeras genom jämförelse med refe-

⁷⁸ Naturvårdsverket (1994). Vattenrecipientkontroll vid skogsindustrier. Allmänna Råd 94:2

renspunkter som kan antas vara opåverkade av det utsläpp som studeras. På motsvarande sätt kan provfiske genomföras, företrädesvis av arter som är stationära. Metodik för inventering av växt- och djurplankton finns också.

Ett avloppsvatten som i tester visats vara toxiskt bedöms påverka ett vattenområde om det kan påvisas i detta. Vidare bedöms skadeverkningarna som svårare om utsläppet sker i t ex strandnära områden av betydelse för många organismers fortplantning. En beräkning av spridnings- och spädningsbilden är ofta motiverad för att illustrera utsträckningen av området som påverkas. Extrapolering från laboratoriedata till fältförhållanden och från akuttoxicitetsdata till subletala effekter innebär en kraftig approximering. Man kan emellertid konstatera att såväl biologisk-kemisk karakterisering av t ex svenska skogsindustriavlopp som recipientundersökningar gemensamt pekar på markant reduktion av miljöpåverkan under de senaste decennierna⁷⁹. Detta bör kunna ses som ytterligare belegg för att ett genomtänkt urval och förfining av laboratorietester kan generera praktiskt användbara indikationer på eventuella effekter i miljön och som i slutändan antingen kan ”fälla eller frikänna” ett punktutsläpp under utredning. Det bör i detta sammanhang noteras att domstol i prövning yttrat att en KIU-undersökning endast ”fälla” ett utsläpp, inte fria, med hänvisning till att en undersökning bara kan omfatta en delmängd av möjliga prover, och särskilt en liten del av möjliga arter att testa. Ett motargument är förstås att den samtidiga testningen av provvattnets cocktail ger en betydande fördel över analys av enskilda ämnen, och det blir i slutändan en fråga om vilken säkerhet som behövs krävas för ytterligare åtgärder mot ett specifikt utsläpp.

5.9 Metodval

Det är viktigt att skilja på testning av kemikalier och testning av avloppsvatten, även om i princip samma metoder används i båda fallen. Vid testning av kemikalier hänvisas generellt till OECD-metoder, medan för testning av avloppsvatten hänvisas till SIS-metoder. De senare är i flertalet fall identiska med EN (CEN)-metoder och ISO-metoder, eftersom SIS är medlem i ISO och CEN (se 8.2). Det finns ett mycket bra samarbete mellan dessa organisationer genom deltagande i standardiseringsarbetet på olika nivåer.

Vårt sätt att mäta måste ha en vetenskaplig förankring. Det betyder att resultaten skall vara reproducerbara, även om de tagits fram av olika personer och/eller laboratorier. Vi vet av erfarenhet att standardisering ökar reproducerbarheten även hos toxicitetstester, vilket också är skälet till att vi i första hand rekommenderar standardiserade tester i dessa karakteriseringsprogram. Standardiseringens negativa konsekvens är att man binder/fixerar de variabler som kan påverka resultatet i så stor utsträckning att realismen blir lidande, men detta kan samtidigt vara en styrka och ökar trovärdigheten i miljöriskanalysen. Genom att styra och kontrollera så många miljöfaktorer som möjligt, såsom temperatur, ljus, pH, hårdhet, närings-

⁷⁹ Naturvårdsverket (2009). Utvärdering av biologiska tester gjorda på svenska skogsindustriavlopp 2001 – 2007. Rapport 6304

tillgång mm, så ökar sannolikheten för att försöksresultatet representerar provets egenskaper.

Laboratorieförsök är naturligtvis inte ”naturliga”, men är en nödvändig förenkling för att underlätta jämförelser mellan olika provvatten och olika koncentrationers effekter på försöksorganismerna.

Standardiserade metoder har alla utvecklats via forskning och vetenskapliga experiment som ofta publicerats i någon form. Detta arbete utgör en dynamisk bas för den pågående kompetensuppbyggnaden kring effekter av nya ämnesgrupper och/eller nya effekter av ”gamla” ämnesgrupper. En del av dessa metoder kan så småningom komma att standardiseras, men kan även komma att utnyttjas direkt eller i modifierad form som bästa tillgängliga metodik i en specifik problemsituation. Dessa metoder lämpar sig bäst för senare steg eller förbättringar av miljöriskanalysen för ett specifikt avloppsvatten, när man konstaterat att enklare tester inte kan ge svar på de frågor man ställer.

Metodurvalet bygger således på såväl etablerade/standardiserade och förenklade testmetoder som avancerade forskningsmetoder som är under utveckling. De enkla metoderna används i ett initialt skede för att bilda basen i en miljöriskanalys och medger oftast att fler tester kan genomföras till en relativt låg kostnad. I några sammanhang har även framförts krav att internationellt accepterade tester (t ex ISO, OECD) snarare än svenska tester och arter skall användas. Motivet till detta kan vara att man konkurrerar på en internationell marknad och inte vill ”fastna” i ett specifikt svenskt nätverk av tester. Ett annat skäl kan vara om man ifrån myndighetshåll vill nå bättre internationell förståelse genom att stödja sig på internationellt väletablerade tester eller testorganismer. Metodurvalet i denna handbok har därför eftersträvat att tillgodose behovet av såväl nationella som internationella tester och testorganismer.

En sammanställning över flertalet variabler finns i tabell 8.1 och de förekommande standardmetoderna listas i avsnitt 8.2.

6 Exempel på tillämpning

I Sverige har KIU framför allt använts som informationskälla i tillståndsgivningsprocessen. Endera visar verksamhetsutövaren redan i ansökan att man uppfyller rimliga krav på utsläpp av miljöfarliga ämnen det, eller blir man som en del i domen förelagda att göra sådana undersökningar efter att anläggningen eller processen förändrats i enlighet med tillståndet som prövotidsutredning. Undersökningar med anledning av rapporteringskrav i någon av havskonventionerna (OSPAR, HELCOM) har också förekommit, men detta har efterhand blivit mindre vanligt. Här redovisas några exempel på sådana tillämpningar.

6.1 Tillverkning av bindemedel

Tillverkaren blev av domstolen förelagd att karakterisera avloppsvattnet före och efter reningsverket. Motivet var i första hand att visa att reningen förslog för en planerad ny processlinje. Man fann bland annat:

6.1.1 Nedbrytning

I blandprovet reducerades COD från 5671 till 319 mg/l, dvs. med 94 % i reningsverket, men fortfarande något högt ställt mot tabell 4.1. Av BOD₇ återstod 7 mg/l, men det försvann inom tre dagar i det biologiska stabiliseringstestet (ISO 7827, anpassat). DOC-reduktionen var samtidigt endast 8 %, dvs. anläggningens biorening tog omhand det som är biologiskt behandlingsbart, medan det persistenta utsläppet var 43 kg DOC/d.

6.1.2 Bioackumulering

EGOM bestämdes till 4,2 mg/l, dvs. betydligt över den gräns på 0,5 mg/l, som ansågs acceptabel i STORK-projektet. PBS-andelen separerades med HPLC, och bestämdes till 2,6 mg/l med $\sum K_{ow} > 3$, vilket innebär c:a 1,9 kg PBS/d i utsläpp till Östersjön. Detta är så högt att ytterligare åtgärder kan motiveras.

6.1.3 Toxicitet

Baserat på en analys av endast Microtox fann man TU50 (toxenheter på EC50-nivån, 15 min) = 1,7 i det biostabiliserade provet och = 4 i avloppsvattnet som det släpptes ut. Detta bedömdes vara medelhög till låg toxicitet.

Tillståndsmyndigheten drog slutsatsen att reningsverket fungerade så bra som man kunde begära, men att bolaget skulle fortsätta att studera möjliga processförbättringar, och att effekterna med avseende på B- och T-faktorerna skulle behandlas i en redan aviserad kommande ansökan.

6.2 Urea/formaldehydarts

En tillverkningslinje för denna harts hade visat sig producera ett avloppsvatten med mycket stabilt och svårbehandlat innehåll. En begränsad karakterisering har utförts på vattnet, som behandlats med fysikaliska och kemiska metoder.

6.2.1 Nedbrytning

Avloppsvattnet var mycket hämmande mot aktivslamympen och måste spädas 20 gånger före det biologiska nedbrytningstestet. Stabiliseringen fortgick i 14 dagar, varefter DOC-reduktionen var 85 %, och nivån var därefter konstant till dag 28. COD-reduktionen var större än 60 %.

6.2.2 Bioackumulering

EGOM bestämdes till 0,28 mg/l, vilket är lägre än de 0,5 mg/l, som preliminärt ses som acceptabelt för ett utsläppt avloppsvatten.

6.2.3 Toxicitet

Hög ammoniumkvävehalt medförde att organismer som alger inte kunde användas i test. EC50 (15 min) med Microtox var 7,8, dvs. TU50 = 13. Provet bedömdes vara starkt toxiskt, men toxiciteten reducerades med mer än 50 % i stabiliserings-testet. Spädningen för testet gör dock att detta är en mycket osäker bestämning. Konsultlaboratoriet ansåg att orsaken till toxiciteten var väteperoxid och formaldehyd, vilket kan förklara att det blev behandlingsbart efter tillräcklig spädning.

Före utsläppspunkten blandas avloppsvattnet med annat avlopp. Resultaten tyder på att den blandningen borde kunna ges ytterligare behandling med framgång – dvs. vara mindre hämmande, men detta återstod att testa då detta skrevs.

6.3 Vinyl/polyvinylklorid tillverkning

Den svenske PVC-tillverkaren hade efter en tidigare omprövning byggt om sitt reningsverk till stor del och därefter genomfört en karakterisering.

6.3.1 Nedbrytning

Det behandlade vattnet innehöll endast 6 mg BOD₇/l. Det ansågs inte motiverat att genomföra ett stabiliseringstest, eftersom en tidigare undersökning (STORK) hade visat reduktion till ungefär samma nivå av TOC som nu nåddes i det behandlade avloppsvattnet.

6.3.2 Bioackumulering

EGOM bestämdes till 0,33 mg OC/l eller 0,39 mg/l räknat som C₂₀H₄₂, en reduktion på 40 % jämfört med vad den tidigare anläggningen hade presterat. Eftersom detta var under 0,5 mg/l gjordes ingen fullständig PBS-bestämning.

6.3.3 Toxicitet

TU50 and TU20 med Microtox (15min) var under 1, dvs. ingen utspädning borde krävas för att förhindra akuta effekter vid utsläppspunkten. Ett kroniskt test med *Nitocra spinipes* visade att reproduktionen hämmades vid lägre spädning än tre gånger. Tillväxthämning av den marina algen *Nephroselmis pyriformis* hade varit stark i tidigare tester, men var nu EC50 = 23 % eller TU50 = 4,3, vilket var en påtaglig förbättring. NOEC kunde bestämmas till 10 %. Viss hämning av kräftdjur och alger kvarstod alltså, men spädningen vid utsläppspunkten är 200 gånger, varför man inte kunde vänta sig effekter i recipienten.

Miljödomstolen accepterade dessa resonemang.

6.4 Olja och lack

Tillverkning av råvara för färgtillverkning. Anläggningen har egen biologisk avloppsrening, som förbehandlar vattnet innan det också behandlas i kommunalt reningsverk. Den kommunal myndigheten accepterade vattnet i detta skick, vilket gör att en del ekotoxmått är av mindre intresse i detta fall.

6.4.1 Nedbrytning

Nedbrytningen mätt som DOC över 28 d var så låg som 3,5 %, vilket tyder på att den interna bioreningen är tillräckligt effektiv. Samtidigt var dock reduktionen av TOC så hög som 52 %, beroende på fortsatt upplösning av fast eller emulgerat material. Det finns skäl att tro att fortsatt reduktion sker i den kommunala anläggningen.

6.4.2 Bioackumulering

EGOM bestämdes till 4,9 mg/l, varav 1,2 mg/l kunde redovisas som PBS. Det finns inga uppgifter på hur detta hanterades i det kommunala verket.

6.4.3 Toxicitet

Ingen nitrifikationshämmning kunde påvisas. EC50 med Microtox (15 min) var 57 %, dvs. den akuta toxverkan mot den bakterien var relativt låg. Ett test med *Ceriodaphnia dubia* indikerade en liknande toxicitet, men endast nitrifikationstestet är av vikt i detta fall.

Denna karakterisering gjordes för rapportering i HELCOM-rekommendationen 20/6 (Requirements for Discharge of Waste Water from the Chemical Industry), inte för att redovisas i samband med provning.

6.5 Massa och papper

En tillverkare av liner (kraftliner) baserad på egen blekt och oblekt sulfatmassa, returfibermassa och inköpt blekt massa. I beslut förelades bolaget utreda processerna och externa reningsåtgärder, samt att genomföra en kemisk och biologisk

karakterisering av avloppsvatten renat i pilot. I en senare deldom fick bolaget beslut om installation och idrifttagning och därefter ålades bolaget genomföra ännu en karakterisering efter intrimning av reningsverket.

6.5.1 Nedbrytbarhet

Nedbrytbarheten testades alltså i detta fall genom behandling i en pilotanläggning. Man fann bl.a.

	Ingående	Utgående	Reduktion
COD [mg/l]	673	84	88
BOD [mg/l]	200	< 4	> 98
Extraktivämnen [μ g/l]	1500	20	99

Efter intrimning av fullskaleanläggningen visade den motsvarande hög reduktion av dessa variabler.

6.5.2 Bioackumulerbarhet

Den möjliga bioackumulerbarheten testades därefter, med ett EGOM-test som visade relativt låg mängd extrakt i inkommande, 0,34 mg/l, och att det reducerades 94 % till 0,02 mg/l i reningsverket. Det finns inte skäl att ytterligare utreda den delfrågan.

6.5.3 Toxicitet

I pilotundersökningen erhöles med algen *Ceramium tenuicorne* EC10 = 12 % efter behandlingen, en signifikant förbättring mot inkommande 0,3, men fortfarande motiverande ytterligare insatser. I den andra karakteriseringen erhöles i utgående EC10 = 69 % i utgående vatten, dvs. reningsverket, och ev. andra förändringar har lett till en låg återstående toxicitet.

I den första karakteriseringen undersöktes också effekter på kräftdjuret *Nitocra spinipes* där obehandlat vatten visade förhöjd dödlighet jämfört med behandlat i akutttester. Subkroniskt och kroniskt hade det dock ingen negativ effekt på larvutveckling eller populationstillväxt över två generationer. Bedömningen gjordes att detta test inte behövde upprepas med vatten från fullskaleanläggningen.

Det obehandlade avloppsvattnet hade en signifikant effekt på kläckning och överlevnad av sebrafiskägg och yngel, ned till 3x utspädning. Däremot gav det i pilotbehandlade vattnet ingen effekt. Det obehandlade gav en svag östrogen effekt i F1 men inte i F2, medan det behandlade vattnet inte gav några sådana effekter. Likaså gav det obehandlade vattnet en signifikant sämre fortplantningsförmåga, medan det behandlade inte gav några sådana skador.

Flera effekter erhöles i genomförda fiskeriundersökningar, både före och efter idrifttagande av reningsverket var recipientens fiskar mindre än i referenspunkten. Före var det ingen skillnad i gonadsomatiskt index, men skillnaden var signifikant

efter, fisk fångad i recipienten visade en signifikant avvikande blodbild. Dessa påvisade effekter har dock relativt samstämmigt förkastats av ekotoxikologisk expertis, såsom mindre relevanta i detta sammanhang.

Den samlade bedömningen från myndigheterna är att fiskeriundersökningarna bör upprepas för att klargöra om referensfisket är tillförlitligt, ev. i kombination med upprepning av vissa toxicitetstester på avloppsvattnet. Det är dock uppenbart att reningsverket har haft en avgörande positiv effekt på bolagets utsläpp. Miljödomstolens avgörande återstår.

III Referensmaterial

7 Regelverk och listor

7.1 Miljöbalken

Miljöbalkens kapitel 9 omfattar miljöfarlig verksamhet och hälsoskydd. Med miljöfarlig verksamhet avses bland annat utsläpp av avloppsvatten, fasta ämnen eller gas från mark, byggnader eller anläggningar i mark, vattenområden eller grundvatten. Med avloppsvatten menas avloppsvatten eller annan flytande orenlighet, kylvatten, vatten som avleds för sådan avvattning av mark inom detaljplan som inte görs för en viss eller vissa fastigheters räkning samt vatten som avleds från begravningsplats.

Miljöbalkens kapitel 6 beskriver syftet med och kraven på miljökonsekvensbeskrivningar - MKB. En MKB skall bland annat innehålla de uppgifter som krävs för att påvisa och bedöma den huvudsakliga inverkan på människors hälsa, miljön och hushållningen med mark och vatten samt andra resurser som verksamheten eller åtgärden kan antas medföra. Härav följer att en utsläppskarakterisering normalt är en del av en MKB.

7.2 REACH⁸⁰

REACH (Registration, Evaluation, Authorisation & Restriction of Chemicals) ställer krav på att de som hanterar kemikalier ska ta fram data om kemikaliernas egenskaper och bedöma riskerna. En ny tillståndsprövning införs för kemikalier som har allvarliga hälso- och miljöfarliga egenskaper. Reglerna om tillståndsprövning för ämnen med särskilt farliga egenskaper stämmer delvis överens med Kemikalieinspektionens Prioriteringsguide.

REACH började gälla stegvis med början den 1 juni 2007, då bland annat reglerna om information i distributionskedjan började tillämpas. Ett år senare, dvs. den 1 juni 2008, började reglerna om registrering och tillstånd att gälla. Reglerna om begränsningar började gälla den 1 juni 2009.

7.2.1 Registrering

Den som tillverkar eller importerar kemiska ämnen i mängder över ett ton per år ska registrera dessa hos den europeiska kemikaliemyndigheten (ECHA). I samband med detta ska grundläggande riskbedömningar och riskdata lämnas om ämnet. Detta gäller bland annat för cirka 30 000 så kallade infasningsämnen (gamla ämnen som redan finns på marknaden). Ett ämne som inte är registrerat inom fastställda tidsfrister får inte tillverkas eller sättas ut på EU-marknaden.

⁸⁰ Texten bygger till stor del på information hämtad från www.kemi.se

7.2.2 Tillståndsprövning

Ämnen med särskilt farliga inneboende egenskaper får i vissa fall inte användas utan tillstånd. Vid tillståndsprövningen av sådana kemikalier ska säkrare alternativ övervägas. Om alternativen är ekonomiskt eller tekniskt rimliga ska de farliga ämnen bytas ut. Den Europeiska kemikaliemyndigheten tar fram en så kallad kandidatlista med ämnen som kan bli föremål för tillståndsprövning.

7.2.3 Begränsningar

Användningen av ett ämne kan förbjudas eller begränsas om användningen medför oacceptabla risker. De förbud och begränsningar som tidigare fanns i det så kallade begränsningsdirektivet (direktiv 76/769/EEG) har från den 1 juni 2009 förts över till bilaga XVII i Reach.

7.2.4 Information i distributionskedjan

Liksom tidigare gäller att information ska lämnas i distributionskedjan i form av säkerhetsdatablad som innehåller information om ett ämnes farliga egenskaper, riskhanteringsåtgärder med mera. En nyhet är att säkerhetsdatabladen kompletteras med information från registreringen i form av så kallade exponeringsscenarier.

7.2.5 Nedströmsanvändare

Ett exempel på en industriell nedströmsanvändare som berörs av KIU är den som använder ett eller flera ämnen vid tillverkning av en kemisk produkt eller i en produktionsprocess, exempelvis som avfettningsmedel före efterföljande ytbehandling. En skyldighet är t ex att vidarebefordra ny information uppåt i distributionskedjan om farliga egenskaper och lämpliga riskhanteringsåtgärder. Vidare ska nedströmsanvändaren tillämpa de åtgärder för att kunna hantera risker som beskrivs i säkerhetsdatabladet eller i egen kemikaliesäkerhetsbedömning.

7.2.5.1 UPPGIFTER OM VILKA ÄMNEN SOM ANVÄNDS I VERKSAMHETEN

Följande uppgifter om de ämnen som används i verksamheten enligt REACH är även lämpliga uppgifter inför en karaktärisering.

- Gör en förteckning över de kemiska ämnen som det egna företaget hanterar (se till exempel rubriken Sammansättning/beståndsdelar i säkerhetsdatabladet).
- Förteckningen bör innehålla CAS-, EINECS- eller ELINCS-nummer, uppgifter om hälso- och miljöfarlighetsklassificering, användningsområden för respektive ämne.
- Identifiera och komplettera eventuellt med uppgifter som saknas om hantering etc.
- Uppskatta vilken mängd av varje ämne som hanteras per år.
- Uppskatta vilken halt och mängd av respektive ämne som släpps ut till vatten vid olika driftförhållanden

7.2.6 Kandidatlistan

ECHA har publicerat en lista över särskilt farliga ämnen (http://echa.europa.eu/chem_data/authorisation_process/candidate_list_en.asp) där kriterierna omfattar cancerogenitet, vPvB-egenskaper och PBT-egenskaper, dvs. till stor del i överensstämmelse med kriterierna för KemI:s utfasningslista (se följande avsnitt). Listan omfattade i mars 2010 30 ämnen.

7.3 Kemikalieinspektionens Prioriteringsguide (PRIO)⁸¹

PRIO delar in ämnen i två prioriteringsnivåer, **utfasningsämnena** och **prioriterade riskminskningsämnena**. Vilken grupp ett ämne tillhör beror på ämnets egenskaper. Kriterierna för utfasningsämnena i PRIO stämmer till stor del med kriterierna för tillståndsprövning av särskilt farliga ämnen i REACH. Man kan därför söka i PRIO för att få en uppfattning om vilka ämnen som i framtiden kan bli föremål för tillståndsprövning inom REACH (KemI).

Ämnen med följande kriterier/egenskaper kan vara intressanta att ta med i bedömningen vid användningen av denna handbok:

- CMR-ämnen
- PBT/vPvB-ämnen och potentiella PBT/vPvB-ämnen
- Kvicksilver, kadmium, bly och deras föreningar
- Miljöfarliga ämnen och ämnen med långtidseffekter R53 och R50/53 (Riskminskningsämnena enligt KemI, dvs. ej R50, R51, R52, R51/53 eller R52/53, R-fraserna diskuteras utförligt på www.kemi.se).

7.3.1 Utfasningsämnena

- CMR (cancerogen, mutagen eller reproduktionsstörande), kategori 1 och 2 (dvs. mutagen för människa respektive skall betraktas som mutagen för människa)
- PBT/vPvB (persistenta, bioackumulerande och toxiska/mycket persistenta och mycket bioackumulerande)
- Särskilt farliga metaller (kvicksilver, kadmium, bly och deras föreningar)
- Hormonstörande
- Ozonnedbrytande

7.3.2 Prioriterade Riskminskningsämnena

- Mycket hög akut giftighet
- Allergiframkallande
- Mutagen, kategori 3, dvs. möjligen mutagen för människa
- Hög kronisk giftighet
- Potentiell PBT/vPvB
- Miljöfarligt, långtidseffekter

⁸¹ Texten bygger till stor del på material från www.kemi.se

7.3.3 Kriterier för att bedöma om ämnet är ett prioriterat riskminskningsämne – Potentiell PBT/vPvB

PRIO-verktygets kriterier är baserade på kriterierna i REACH och kriterierna i EU-kommissionens vägledningsdokument (TGD) för riskbedömning.

Tabell 7.1 Kriterier för persistens och bioackumulerbarhet

Potentiell PBT	Persistens	Bioackumulering	Toxicitet
	Om data på halveringstider från simuleringstest saknas kan annan information om nedbrytbarhet användas.	Log K_{ow} > 4.5 Hög bioackumulering i andra organismer än akvatiska.	L(E)C50 < 0.1 mg/l LD50 < 200 mg/kg kropps- vikt/d samt giftigheten förväntas vara systemisk R25 resp. R28
Potentiell vPvB	Samma som ovan	Samma som ovan	Ej tillämpligt

7.3.3.1 KRITERIER FÖR POTENTIELL P/VP

Då data på halveringstider från simuleringstest saknas kan annan information om nedbrytbarhet användas. Följande kriterier kan användas som vägledning för att bedöma om ämnet är potentiellt P:

- Lätt nedbrytbara ämnen (oavsett om inom 10-dagarsfönstret för standardmetoden eller inte) anses som icke persistenta i PBT-bedömningen.
- Organiska ämnen som inte uppfyller kriterierna för lätt nedbrytbarhet anses potentiellt persistenta.
- Organiska ämnen som inte uppfyller kriterierna för strukturellt betingad (inherent degradability) nedbrytbarhet anses potentiellt persistenta.
- Organiska ämnen som uppfyller kriterierna för (inherent) nedbrytbarhet kan inte automatiskt ses som icke persistenta. Två specifika test kan dock anses visa på icke persistens om vissa kriterier är uppfyllda:
 1. Zahn-Wellens test (OECD 302B). 70% mineralisering måste uppnås inom 7 dagar, lagfasen ska inte vara mer än 3 dagar, procent försvinnande i testet innan nedbrytning börjar ska vara mindre än 15%, samt att testet ska vara utfört utan pre-adaptrade mikroorganismer;
 2. MITI II-test (OECD 302C). Nivån för inherent måste uppnås inom 14 dagar, lagfasen ska inte vara mer än 3 dagar, testet ska vara utfört utan pre-adaptrade mikroorganismer.

Om det finns flera motsägelsefulla data så görs en bedömning från fall till fall där man väger in all tillgänglig information om ämnets nedbrytbarhetsegenskaper (*weight of evidence*) för att utröna om ämnet bör anses ha potential att vara persistent.

7.3.3.2 KRITERIER FÖR POTENTIELL B/VB

När uppmätta BCF-värden saknas kan K_{ow} eller BCF beräknat med hjälp av QSAR-modeller användas för att bedöma ett ämnes potential att bioackumuleras. För mycket fettlösliga ämnen, med $\log K_{ow} > 6$, måste en expertbedömning göras från fall till fall för att bedöma om ämnet är potentiellt bioackumulerande.

Annan information som t. ex påvisad hög bioackumulering i andra arter än vattenlevande organismer och uppmätta halter i biota kan också användas för att bedöma om ämnet uppfyller kriteriet. Uppmätta halter i biota visar om ämnet kan tas upp i organismen, men inte i vilken utsträckning det bioackumuleras eller biokoncentreras. Därför måste denna typ av information bedömas från fall till fall.

7.3.3.3 KRITERIER FÖR POTENTIELL T

Då data från långtidsstudier saknas för att bedöma om ett ämne är ett PBT-ämne kan resultat från korttidsstudier användas för att bedöma om det är potentiellt giftigt (T). Ett ämne anses vara potentiellt giftigt (T) då det har ett experimentellt bestämt $L(E)C50 < 0.1$ mg/l för vattenlevande organismer.

Data från korttidsstudier på däggdjur används normalt inte för att bedöma möjliga kroniska effekter. Dock kan ett ämne som är klassificerat giftigt eller mycket giftigt vid förtäring ($LD50 < 200$ mg/kg kroppsvikt/d), d.v.s. klassificerat R25 eller R28 enligt KIFS 2005:7, anses vara potentiellt giftigt.

Då inga data finns tillgängliga om ett ämnes giftighet kan bedömningen baseras på modellberäkningar utifrån ämnets struktur med hjälp av QSAR-modeller.

7.4 Vattendirektivet

I ramdirektivet för vatten 2000/60/EG fastställs ett system för att hantera kemisk förorening av ytvatten och grundvatten. 33 ämnen har valts ut som prioriterade ämnen. Prioriterade ämnen är kemiska föroreningar som utgör ett allvarligt hot mot organismer i vattenmiljön eller mot dem som får i sig föroreningarna via vattenmiljön. Vissa prioriterade ämnen bedöms vara särskilt farliga och benämns prioriterade farliga ämnen (tabell 7.2).

För Vattendirektivets 33 prioriterade ämnen finns s.k. ”klassgränser”⁸² fastställda i direktiv 2008/105/EG om miljökvalitetsnormer inom vattenpolitikens område.

⁸² Den engelska termen Environmental Quality standard (EQS) benämns i den svenska översättningen av direktiv 2008/105/EG ”miljökvalitetsnorm”. Naturvårdsverket föreslår att begreppet klassgränser används för denna typ av kvalitetskrav eftersom miljökvalitetsnorm på svenska har en annorlunda innebörd än den EG-rättsliga. Vattendirektivets miljömål enligt art. 4 motsvaras i svensk rätt av miljökvalitetsnormer enligt 5 kap. miljöbalken. I detta sammanhang är vattendelegationens beslut om kvalitetskrav en miljökvalitetsnorm. Ordet miljökvalitetsnorm definieras däremot i vattendirektivet art. 2.35 som ”koncentration av ett förorenande ämne som inte bör överskridas” och är kvalitetskrav fastställda på EU-nivå som i och med vattendelegationens beslut kommer att utgöra en del av miljökvalitetsnormen fastställd med stöd av 5 kap. miljöbalken för den aktuella vattenförekomsten.

Klassgränserna är i huvudsak framtagna för vattenfas, men för tre ämnen även för biota (hexaklorbensen, hexaklorbutadien och metylkvicksilver), och är fastställda för att skydda vattenlevande organismer samt djur och människor som lever av dessa organismer från skadliga effekter. Förslag till ytterligare prioriterade ämnen kommer att läggas fram av kommissionen i början av 2011. Direktivet har införlivats med svensk lagstiftning via ändringar i vattenförvaltningsförordningen (2004:660) under 2009.

Utöver klassgränser för dessa ämnen finns Naturvårdsverkets rapport 5799⁸³ där gränsvärden finns framtagna för 31 ämnen eller ämnesgrupper av relevans för Sverige, för vattenfas, sediment och/eller biota. Dessa är inga lagligt bindande gränser, men har tagits fram enligt EU:s Technical Guidance Document och kan användas som stöd vid miljöbedömningar.

Tabell 7.2 De 33 prioriterade ämnena

Nr	CAS-nummer ¹	Det prioriterade ämnets namn ²	Identifierat som prioriterat farligt ämne
(1)	15972-60-8	Alaklor	
(2)	120-12-7	Antracen	X
(3)	1912-24-9	Atrazin	
(4)	71-43-2	Bensen	
(5)	Ej tillämpligt	Bromerade difenyletrar ³	X ⁴
	32534-81-9	Pentabromodifenyleter (kongener med numren 28, 47, 99, 100, 153 och 154)	
(6)	7440-43-9	Kadmium och kadmiumföreningar	X
(7)	85535-84-8	Kloralkaner, C10-13 ³	X
(8)	470-90-6	Klorfenvinfos	
(9)	2921-88-2	Klorpyrifos (Klorpyrifosetyl)	
(10)	107-06-2	1,2-diklorethan	
(11)	75-09-2	Diklormetan	
(12)	117-81-7	Di(2-etylhexyl)ftalat (DEHP)	
(13)	330-54-1	Diuron	
(14)	115-29-7	Endosulfan	X
(15)	206-44-0	Fluoranten ⁵	
(16)	118-74-1	Hexaklorbensen	X
(17)	87-68-3	Hexaklorbutadien	X
(18)	608-73-1	Hexaklorcyklohexan	X
(19)	34123-59-6	Isoproturon	
(20)	7439-92-1	Bly och blyföreningar	
(21)	7439-97-6	Kvicksilver och kvicksilverföreningar	X
(22)	91-20-3	Naftalen	
(23)	7440-02-0	Nickel och nickelföreningar	

⁸³ Naturvårdsverket (2008). Förslag till gränsvärden för särskilda förorenande ämnen. Rapport 5799

(24)	25154-52-3	Nonylfenol	X
	104-40-5	(4-nonylfenol)	X
(25)	1806-26-4	Oktylfenol	
	140-66-9	4-(1,1',3,3'-tetrametylbutyl-fenol)	
(26)	608-93-5	Pentaklorbensen	X
(28)	Ej tillämpligt	Polyaromatiska kolväten	X
	50-32-8	(Benso(a)pyren)	X
	205-99-2	(Benso(b)fluoranten)	X
	191-24-2	(Benso(g,h,i)perylene)	X
	207-08-9	(Benso(k)fluoranten)	X
	193-39-5	(Indeno(1,2,3-cd)pyren)	X
(29)	122-34-9	Simazin	
(30)	Ej tillämpligt	Tributyltennföreningar	X
	36643-28-4	(Tributyltenn-katjon)	X
(31)	12002-48-1	Triklorbensen	
(32)	67-66-3	Triklormetan (kloroform)	
(33)	1582-09-8	Trifluralin	

(1) CAS: Chemical Abstracts Services.

(2) Om grupper av ämnen har valts ut, anges i förteckningen typiska enskilda representanter som indikatorer (inom parentes och utan nummer). För dessa grupper av ämnen måste den vägledande parametern definieras med en analytisk metod.

(3) Dessa grupper av ämnen inbegriper normalt ett stort antal enskilda föreningar. För närvarande kan lämpliga vägledande parametrar inte ges.

(4) Endast pentabromdifenyleter (CAS-nummer 32534-81-9).

(5) Fluoranten anges i förteckningen som vägledning för andra, farligare polyaromatiska kolväten."

7.4.1 Blandningszoner

Som påpekats i 4.1.1 tas nu fram riktlinjer för bedömning av blandningszoner, till vilka dessa 33 ämnen släpps ut. En stegvis process föreslås:

0. Finns ett av de 33 ämnena i avloppsvattnet? Om inte avsluta.
1. Screeningsteg med enkla test för att avgöra om utsläppet behöver studeras närmare, med avsikt att ta bort triviala utsläpp
2. Enkel approximering – det är först här som blandningszonen studeras närmare, för detaljer hänvisas läsaren till EU:s vägledning
3. Detaljerad bedömning

I handledningen för steg 1 föreslås gränsen för acceptabelt ökad halt av ett ämne (än så länge av de 33) vara

Liten flod	≤ 100	m ³ /s	maximal ökning 4 %
Medelstor flod	100 < flöde ≤ 300	m ³ /s	1 %
Stor flod	> 300	m ³ /s	0,5 %

Att ställa upp en motsvarande tabell för insjöar är inte möjligt, för kustvatten kan en hantering som för floder tänkas men för närvarande finns inga sådana underlag, utan man föreslår fördjupad analys enligt steg 2.

8 Metodsammanställning

8.1 Analyser och tester

Tabell 8.1 Kemiska och biologiska egenskaper. Standarder (numrerade som i 8.2)

Kemiska eller fysikaliska analyser	
	<u>Standard</u>
Flöde	
pH	10
Konduktivitet	7
Suspenderat material	1
BOD	3, 4
TOC	2
DOC	2
AOX	6
EOX	
Oljeindex	5
N-tot	
NH ₄ -N	13
P-tot	8
Fenol	11
PCB	
Klorerade dioxiner, furaner	
PAH	
Bransch- eller anläggningsspecifika ämnen	
Hg	
Cd	15
Pb	15
Cu	15
Ni	15
Cr, Cr-VI	15
Zn	15
Metaller totalt	
EGOM	
Bioackumulerbarhet relaterat till K _{ow}	
Biologiska egenskaper	
<i>Nedbrytbarhet</i>	
Respirationshämning	44
Biostabilisering 28 d	43
Zahn-Wellens	47

Bioackumulerbarhet

Biokoncentrering som BCF OECD 1996

Toxicitet

Nitrifikationshämmning	16
Bakterieluminiscens (<i>Vibrio fischeri</i>)	18
Tillväxthämning grönalg (<i>Raphidoceles subcapitata</i>)	23
Tillväxthämning marin alg (<i>Skeletonema costatum</i>)	24
Tillväxt- och reproduktionstest på makroalg (<i>Ceramium tenuicorne</i>).	26
Tillväxthämning högre växter - andmat (<i>Lemna minor</i>)	27
Reproduktionstest på kräftdjur (<i>Nitocra spinipes</i> alt. <i>Ceriodaphnia dubia</i>).	30, 31
Fiskembryotest (FET) sebrafisk (<i>Danio rerio</i>) eller spigg	33
Reproduktionstest på sebrafisk, ev. kombinerat med flergenerationstest ⁸⁴	32
Gentoxicitet	40
Mutagenicitet	
Endokrina effekter jäst (YAS;YES)	
Endokrina effekter spigg (<i>Gasterosteus aculeatus</i>)	
Avgiftningsenzym EROD	37

Fisktest på en eller flera generationer, särskilt vid vildfångad fisk, burförsök eller modellekosystem (se 5.4.2.2).

Tillväxt, energiomsättning, kondition

Längd/vikt
 Konditionsfaktor

Könsmognad

Gonadstorlek
 Ålder/storlek vid könsmognad
 Könsteroider i blodplasma
 Vitellogenin i blodplasma 38

Leverfunktion

Leverstorlek
 Leverglykogen alt. muskelglykogen
 EROD-aktivitet 37
 UDPGT-aktivitet
 Glutationreduktas

Immunförsvar

Antikroppstitrer
 Immunoglobuliner (IgM)
 i blodplasma

⁸⁴ Undersökningar har nu visat att flergenerationstest inte ger ett bättre underlag än engenerationstest vid studier av utsläpp från massabruk: Naturvårdsverket (2009). Utvärdering av biologiska tester gjorda på svenska skogsindustriavlopp 2001 – 2007. Rapport 6304

Patologi, hematologi

Patologiska förändringar

Röda blodceller

Hemoglobin

Kalium i blodplasma

Klorid i blodplasma

8.2 Lista på standarder

8.2.1 Kemiska analyser

1. SS-EN 872:2005

Vattenundersökningar – Bestämning av suspenderade ämnen – Metod baserad på filtrering genom glasfiber

2. SS-EN 1484

Vattenundersökningar – Riktlinjer för bestämning av totalt organiskt kol (TOC) och löst organiskt kol (DOC)

3. SS-EN 1899-1

Vattenundersökningar – Bestämning av biokemisk syreförbrukning efter n dagar (BOD_n) – Del 1: Utspädningsmetod med tillsats av allyltiourinämne

4. SS-EN 1899-2

Vattenundersökningar – Bestämning av biokemisk syreförbrukning efter n dagar (BOD_n) – Del 2: Metod för utspädda prover

5. SS-EN ISO 9377-2

Vattenundersökningar – Bestämning av oljeindex – Del 2: Gaskromatografisk metod efter vätskeextraktion

6. SS-EN ISO 9562:2005

Vattenundersökningar – Bestämning av adsorberade organiskt bundna halogener (AOX)

7. SS-EN 27888

Vattenundersökningar – Bestämning av konduktiviteten

8. SS 28102

Vattenundersökningar – Totalfosfor i skogsindustriella avloppsvatten – Spektrofotometrisk metod

9. SS 28113

Vattenundersökningar – Bestämning av torrsubstans och glödgningsrest i vatten, slam och sediment

10. SS 28122

Vattenundersökningar – Bestämning av pH-värde hos vatten

11. SIS 28128

Vattenundersökningar – Bestämning av fenoler i vatten

12. SS 28133

Vattenundersökningar – Bestämning av summan av halten nitrit- och nitratnitrogen i vatten

13. SIS 28134
Vattenundersökningar – Bestämning av ammoniumkvävekoncentrationer hos vatten

14. SS 28136
Vattenundersökningar – Bestämning av kloridhalt i vatten . Potentiometrisk metod

15. SS-EN ISO 11885:2009
Vattenundersökningar – Bestämning av ett antal utvalda grundämnen genom atomemissions-spektrometri med induktivt kopplad plasma (ICP-AES) (ISO 11885:2007).

8.2.2 Bakterier

16. SS-EN ISO 9509:2006
Vattenundersökningar – Metod för bestämning av toxicitet genom mätning av nitrifikationshämning hos mikroorganismer i aktivt slam

17. SS-EN ISO 10712
Vattenundersökningar – Bestämning av tillväxthämning av *Pseudomonas putida*

18. SS-EN ISO 11348-1:2008
Vattenundersökningar - Bestämning av vattenprovers hämmande effekt på emissionen av ljus hos *Vibrio fischeri* (Test med luminiserande bakterier) - Del 1: Metod som använder färska bakterier

19. SS-EN ISO 11348-2:2008
Vattenundersökningar - Bestämning av vattenprovers hämmande effekt på emissionen av ljus hos *Vibrio fischeri* (Test med luminiserande bakterier) - Del 2; Metod som använder torkade bakterier

20. SS-EN ISO 11348-3:2008
Vattenundersökningar - Bestämning av vattenprovers hämmande effekt på emissionen av ljus hos *Vibrio fischeri* (Test med luminiserande bakterier) - Del 3: Metod som använder frystorkade bakterier

21. ISO 15522
Water quality - Determination of the inhibitory effect of water constituents on the growth of activated sludge microorganisms

22. ISO 21338
Water quality — Kinetic determination of the inhibitory effects of sediment, other solids and coloured samples on the light emission of *Vibrio fischeri* (kinetic luminescent bacteria test)

8.2.3 Alger – planktoniska mikroalger

23. SS-EN ISO 8692:2005
Vattenundersökningar – Metod för bestämning av tillväxthämning hos encelliga sötvattenslevande grönalger

24. SS-EN ISO 10253:2006
Vattenundersökningar - Bestämning av tillväxthämning på marina alger, *Skeletonema costatum* och *Phaeodactylum tricorutum*

25. ISO 14442
Vattenundersökningar - Riktlinjer för bestämning av avloppsvattens, metallers, svårslösliga och lättflyktiga föreningars, tillväxthämmande effekt på alger

8.2.4 Alger – fastsittande makroalger

26. ISO 10710

Vattenundersökningar - Metod för bestämning av tillväxthämning hos den marina och brackvattenlevande makroalgen *Ceramium tenuicorne*

8.2.5 Högre växter

27. SS-EN ISO 20079:2006

Vattenundersökningar - Toxicitetsmetod - Bestämning av tillväxthämning hos flytbladsväxten, *Lemna minor*, andmat (ISO 20079:2005)

8.2.6 Evertebrater

28. SS-EN ISO 6341:1996

Vattenundersökningar – Bestämning av rörlighetshämning för *Daphnia magna* Straus (Cladocera, Crustacea) – akut toxicitetstest

29. ISO CD (standardförslag) 10872

Water quality - Determination of the toxic effect of sediment and soil samples on growth, fertility and reproduction of *Caenorhabditis elegans* (Nematoda)

30. ISO 14669

Water quality - Determination of acute lethal toxicity to marine copepods (Copepoda, Crustacea)

31. SS 28314

Vattenundersökningar – Bestämning av akut toxicitet för kräftdjuret *Ceriodaphnia dubia* – Statisk metod

8.2.7 Fisk

32. SS-EN ISO 7346-3:1996

Vattenundersökningar – Bestämning av olika ämnens akuta toxicitet för en sötvattensfisk (*Brachydanio rerio* Hamilton-Buchanan (Teleostei, Cyprinidae)) – Part 3: Genomflödesmetod

33. ISO 12890

Water quality - Determination of toxicity to embryos and larvae of freshwater fish - Semi-static method

34. SS-EN 14962:2006

Vattenundersökningar – Vägledning för val och användning av metoder för provtagning av fisk

35. SS-EN ISO 15088:2008

Vattenundersökningar - Bestämning av avloppsvattens akuta toxicitet på ägg från Zebrafisk (*Danio rerio*)

36. ISO 23893-1

Fiskprovtagning

37. ISO 23893-2

EROD-analyser

38. ISO 23893-3

Water quality - Biochemical and physiological measurements of fish - Part 3; Determination of vitellogenin

8.2.8 Genotoxicitet/Mutagenicitet

39. ISO 11350

Water quality - Determination of the genotoxicity of water and waste water - Salmonella/microsome fluctuation test (Ames fluctuation test)

40. ISO 16240

Water quality — Determination of the genotoxicity of water and waste water — Salmonella/microsome test (Ames test)

41. ISO 21427-1

Water quality - Evaluation of genotoxicity by measurement of the induction of micronuclei - Part 1; Evaluation of genotoxicity using amphibian larvae

42. SS-EN ISO 21427-2:2009

Vattenundersökningar – Bestämning av genotoxicitet genom bildning av mikrokärnor – Del 2; Metod med V79-celler från kinesisk hamster (ISO 21427-2;2006)

8.2.9 Nedbrytbarhet

43. SS-EN ISO 7827 T1

Vattenundersökningar – Bestämning av den "ultimata" aeroba bionedbrytbarheten av organiska föreningar i ett akvatiskt medium – Metod genom analys av halten löst organiskt kol (DOC)

44. SS-EN ISO 8192

Vattenundersökningar – Metod för bestämning av hämning av syreförbrukning hos mikroorganismer i aktivt slam (kol- och ammonium-oxidation)

45. SS-EN ISO 9439

Vattenundersökningar – Bestämning av den ultimata aeroba bionedbrytbarheten av organiska föreningar i ett akvatiskt medium – Metod för mätning av bildad koldioxid

46. SS-EN ISO 9887

Vattenundersökningar – Bestämning av nedbrytbarhet hos organiska ämnen under aeroba förhållanden – Semistatisk metod med aktivt slam (SCAS)

47. SS-EN ISO 9888

Vattenundersökningar – Bestämning av den ultimata aeroba bionedbrytbarheten av organiska föreningar i ett akvatiskt medium – Statisk metod (Zahn-Wellens metod)

48. SS-EN ISO 10707

Vattenundersökningar – Bestämning av "ultimata" aeroba bionedbrytbarheten av organiska föreningar i ett akvatiskt medium – metod genom analys av biokemiska syreförbrukning (test med förslutet kärl)

49. ISO 10708 Water quality -- Evaluation in an aqueous medium of the ultimate aerobic biodegradability of organic compounds - Determination of biochemical oxygen demand in a two-phase closed bottle test

50. SS-EN ISO 11733:2005

Vattenundersökningar – Bestämning av eliminering och bionedbrytbarhet av organiska föreningar i ett akvatiskt medium – Simuleringsmetod med aktivt slam

52. ISO 14592-1;2002

Water quality - Evaluation of the aerobic biodegradability of organic compounds at low concentrations -- Part 1: Shake-flask batch test with surface water or surface water/sediment suspensions

53. ISO 14592-2;2002

Water quality - Evaluation of the aerobic biodegradability of organic compounds at low concentrations -- Part 2: Continuous flow river model with attached biomass

54. SS-EN ISO 14593

Vattenundersökningar - Bestämning av fullständig aerob bionedbrytbarhet av organiska föreningar i ett akvatiskt medium - Metod genom analys av oorganiskt kol i ett förslutet kärl (CO₂ headspace test)

55. CEN ISO/TR 15462 Vattenundersökningar - Vägledning vid val av metoder för bestämning av bionedbrytbarhet (ISO/TR 15462:2006)

8.2.10 Provtagningsvägledning

56. SS-EN ISO 5667-1; 2007

Vattenundersökningar - Provtagning - Del 1: Vägledning om provtagnings teknik och utformning av provtagningsprogram (ISO 5667-1:2006)

57. SS-EN ISO 5667-3

Vattenundersökningar – Provtagning – Del 3 Riktlinjer för konservering och hantering av vattenprover (ISO 5667-3 2003)

58. ISO 5667-10

Water quality - Sampling - Part 10: Guidance on sampling of waste waters

59. SS-EN ISO 5667-16

Vattenundersökningar – Provtagning – Del 16: Riktlinjer för biologiska tester

60. SS-EN 14996:2006

Vattenundersökningar – Vägledning för kvalitetssäkring av biologiska och ekologiska vattenundersökningar

9 Källförteckning

9.1 Naturvårdsverkets rapporter

- Naturvårdsverket (1987). Nordström, B, Provtagning – avloppsvatten. Metoder och felkällor. Rapport 3398
- Naturvårdsverket (1988). Biologiska effekter av blekeriavlopp. Slutrapport från projektområdet miljö/cellulosa I. Rapport 3498
- Naturvårdsverket (1989). Biologisk-kemisk karakterisering av industriavloppsvatten. Naturvårdsverkets Allmänna Råd 1989:5
- Naturvårdsverket (1992). Adolfsson-Erici, M & Wahlberg, C, Extraherbart gaskromatografbart organiskt material (EGOM), extraherbart organiskt bunden halogen (EOX), potentiellt bioackumulerbara substanser (PBS). Rapport 4103, Appendix
- Naturvårdsverket (1994a). Industribelastning på kommunala reningsverk. Med inriktning på nitrifikationshämmning. Rapport 4376
- Naturvårdsverket (1994b). Vattenrecipientkontroll vid skogsindustrier. Allmänna Råd 94:2
- Naturvårdsverket (1995). Screeningmetod för nitrifikationshämmning vid drift av kommunala reningsverk. Rapport 4424
- Naturvårdsverket (1996). Karakterisering av utsläpp från kemiindustrin. STORK-projektet. Rapport 4621
- Naturvårdsverket (1997). Miljöpåverkan av skogsindustriella utsläpp. Rapport 4695
- Naturvårdsverket (1999). Bedömningsgrunder för miljö kvalitet. Sjöar och vattendrag. Bakgrundsrapport 1, kemiska och fysikaliska parametrar. Rapport 4920
- Naturvårdsverket (2001a). Egenkontroll: En fortlöpande process. Handbok 2001:3
- Naturvårdsverket (2001b). Operativ tillsyn: handbok för tillsynsmyndigheten. Handbok 2001:4
- Naturvårdsverket (2003). Tillståndsprovning och anmälan avseende miljöfarlig verksamhet: Handbok med allmänna råd. Handbok 2003:5
- Naturvårdsverket (2007). Status, potential och kvalitetskrav för sjöar, vattendrag, kustvatten och vatten i övergångszon. Handbok 2007:4
- Naturvårdsverket (2008). Förslag till gränsvärden för särskilda förorenande ämnen. Rapport 5799
- Naturvårdsverket (2009). Utvärdering av biologiska tester gjorda på svenska skogsindustriavlopp 2001 – 2007. Rapport 6304

9.2 Övriga referenser

- Andersson, T, Förllin, L. Härdig, J & Larsson, Å (1988) Physiological disturbances in fish living in coastal water polluted with bleached kraft mill effluents. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.* 45, 1525-1536
- Backhaus, T, Blanck, H & Faust, M (2010). Hazard and risk assessment of chemical mixtures under REACH. KemI rapport
- Bakker, JF, Belzunze-Segarra, MJ, Castro, R, van de Heuvel-Greve, M, Klamer, HJC, Brack, W, Altenburger, R, Poulsen, V, Thomas, KV & Leonards, PEG (2007). Effect-Directed Analysis and Toxicity Identification Evaluation. Kap. 5 i rapporten [http://www.harbasins.org/fileadmin/inhoud/pdf/Final_Products/WP3/WP3_cited_References/Bakker et al 2007 -
Effect Directed Analysis and Toxicity Identification Evaluation.pdf](http://www.harbasins.org/fileadmin/inhoud/pdf/Final_Products/WP3/WP3_cited_References/Bakker_et_al_2007_-_Effect_Directed_Analysis_and_Toxicity_Identification_Evaluation.pdf)
- Beek, B, Böhling, S, Franke, C, Jöhncke, U, Studinger, G & Thumm, E (2001). The assessment of biodegradation and persistence. I Biodegradation and persistence (B. Beek redaktör), Springer Verlag, Berlin
- Björklom, A, Salste, L, Katsiadaki, I, Wiklund, T & Kronberg, L (2008). Detection of estrogenic activity in municipal wastewater effluent using primary cell cultures from three-spined stickleback and chemical analysis. *Chemosphere* 73, 1064-1070
- Blanck, H, Gustavsson, K & Adolfsson-Erici, M (1983). Effects of various sterilization methods on toxicity and chemical composition of industrial wastewater samples. *Water Research* 17, 965-973
- Breitholtz, M, & Bengtsson, B-E (2001). Oestrogens have no hormonal effect on the development and reproduction of the harpacticoid copepod *Nitocra spinipes*. *Mar. Pollut. Bull.* 42, 879-886
- Breitholtz, M, Ricklund, N, Bengtsson, B-E & Persson, NJ (2007). Silica gel as a particulate carrier of poorly water-soluble substances in aquatic toxicity testing. *Aquat. Toxicol.* 82, 251-264
- Bruno, E & Eklund, B (2003). Two new growth inhibition tests with the filamentous algae *Ceramium strictum* and *C. tenuicorne* (Rhodophyta). *Environmental Pollution* 125, 287-293.
- Dahl, U & Breitholtz, M (2008). Integrating individual ecdysteroid content and growth-related stressor endpoints to assess toxicity in a benthic harpacticoid copepod. *Aquat. Toxicol.* 88, 191-199
- Dahl, U, Rubio-Lind, C, Gorokhova, E, Eklund, B & Breitholtz, M (2009) Food Quality effects on copepods in toxicity tests. *Ecotoxicol. Environ. Saf.* 72, 351-357
- deMaagd, PGJ (2000). Bioaccumulation tests applied in Whole Effluent Assessment: A review. *Environ. Toxicol. Chem.* 19(1), 25-35

- ECHA (2008a). Guidance on information requirements and chemical safety assessment. European Chemicals Agency
- ECHA (2008b). Guidance on information requirements and chemical safety assessment, ch R.7c: Characterisation of dose (concentration) – response for environment
- ECHA (2008c). Guidance on information requirements and chemical safety assessment, ch R.10: Characterisation of dose (concentration) – response for environment
- ECHA (2008d). Guidance on information requirements and chemical safety assessment, ch. R.11: PBT Assessment
- ECHA (2008e). Guidance on information requirements and chemical safety assessment, ch R.16. Environmental exposure estimation
- Eklund, B (2005) Development of growth inhibition test with the marine and brackish water red alga *Ceramium tenuicorne*. *Marine Pollution Bulletin* 50, 921-930.
- Ericsson, G, Lindesjö, E & Balk, L (1998). DNA adducts and histopathological lesions in perch (*Perca fluviatilis*) and northern pike (*Esox lucius*) along a polycyclic aromatic hydrocarbon gradient on the Swedish coastline of the Baltic Sea. *Can J. Fish. Aquat. Sci.* 55, 815-824
- Eriksson, K (2007). Method Development: Embryo Testing with the Three-spined stickleback (*Gasterosteus aculeatus*). Department of Applied Environmental Science, Stockholm University, Stockholm
- EU EQSD CIS (Draft March 2010). Common implementation strategy guidance on setting mixing zones under the EQS Directive (2008/105/EC)
- Fiskesjö, G (1985), The Allium test as a standard in environmental monitoring. *Hereditas* 102, 99-112
- Hahlbeck, E, Katsidiaki, I, Mayer, I, Adolfsson-Erici, M, James, J & Bengtsson, B-E (2004). The juvenile three-spined stickleback (*Gasterosteus aculeatus* L) as a model organism for endocrine disruption II – kidney hypertrophy, vitellogenin and spiggin induction. *Aquat. Toxicol.* 70, 311-326
- Hynning, PÅ (1996). Separation, identification and quantification of components of industrial effluents with bioconcentration potential. *Wat. Res.* 30(5), 1103-1108
- Johnson, I & Watts, C (2001). Review of potential screening methods for the assessment of the persistence and bioaccumulation potential of effluents. Draft report to the Dept of Environment, transport and regions, UK
- Katsidiaki, I, Sanders, M, Sebire, M, Nagae, M, Soyano, K & Scott, A (2007). Three-spined stickleback: an emerging model in environmental endocrine disruption. *Environm. Sci.* 14, 263-283

- Lammer, E, Carr, GJ, Wendeler, K, Rawlings, JM, Belanger, SE & Braunbeck, T (2009). Is the Fish Embryo Toxicity Test (FET) with the zebra fish (*Danio rerio*) a potential alternative for the fish acute toxicity test? *Comparative Biochemistry and Physiology C*, 149, 196-209
- Miljöstyrelsen (1994). Industrispildevands miljöfarlighet. Miljöprojekt nr 260
- OECD (1995). Detailed review paper on biodegradability testing. Environment Monograph No. 98. Org. for Economic Cooperation and Development, Paris
- OECD (1996). Guidelines for testing of chemicals, no. 305, Bioconcentration flow-through fish test.
- OECD (2004). OECD guideline for the testing of chemicals. Aerobic mineralisation in surface water – simulation biodegradation test. No. 309
- OECD (2008). OECD guideline for the testing of chemicals. Simulation tests to assess the biodegradability of chemicals discharged in wastewater. No. 314
- OSPAR (2002). Survey on genotoxicity test methods for the evaluation of wastewater within whole effluent assessment, OSPAR Commission, London
- OSPAR (2003). Survey of the use of effect-related methods to assess and monitor wastewater discharges. OSPAR Commission, London
- OSPAR (2004). OSPAR practical study 2003 on whole effluent assessment. OSPAR Commission, London
- OSPAR (2005). Degradability and liability to bioaccumulate – methods in whole effluent assessment, OSPAR Commission, London
- OSPAR (2007). Practical Guidance Document on Whole Effluent Assessment. OSPAR Commission, London
- Reifferscheid, G, Arndt, C & Schmid, C (2005) Further development of the β -lactamase MutaGen assay and evaluation by comparison with Ames fluctuation tests and the *umu* test. *Env. Molec. Mutagen.* 46, 126-139
- Routledge, EJ & Sumpter, JP (1996). Estrogenic activity of surfactants and some of their degradation products assessed using a recombinant yeast screen. *Environ. Toxicol. Chem.* 6, 3280-3288
- Renberg, L, Sundström, SG & Rosén-Olofsson, AC (1985) The determination of partition coefficients of organic compounds in technical products and wastewaters for the estimation of their bioaccumulation potential using reversed phase thin layer chromatography. *Toxicology & Environm. Chem.* 10, 333-349
- Sebire, M, Allen, M, Bersuder, P & Katsidiaki, I (2008). The model anti-androgen flutamide suppresses the expression of typical male stickleback reproductive behaviour. *Aquatic Toxicology* 90, 37-47

Sohoni, P & Sumpter JP (1998). Several environmental estrogens are also anti-androgens. *J Endocrinol* 158, 327-229

Tarkpea, M, Andrén, C, Eklund, B, Gravenfors, E & Kukulska, Z (1998). A biological and chemical characterisation strategy for small and medium-sized industries connected to municipal sewage treatment plants. *Eur. Tox. Chem.* 17(29), 234-250

USEPA (1991a). Technical Support Document for Water Quality-based Toxics Control

USEPA (1991b). Methods for aquatic toxicity identification evaluations. Phase I Toxicity characterization procedures, 2nd ed.

USEPA (1993a). Methods for aquatic toxicity identification evaluations. Phase II Toxicity identification procedures for samples exhibiting acute and chronic toxicity

USEPA (1993b). Methods for aquatic toxicity identification evaluations. Phase III Toxicity confirmation procedures for samples exhibiting acute and chronic toxicity

Veith, G D, Defo, D L & Bergstedt, B V (1979). Measuring and estimating the bioconcentration factor in fish. *J Fish. Board Can.* 36, 1040-1048

Öberg, T (2009). Miljörisikanalys. Studentlitteratur, Lund

Kemisk och biologisk karakterisering av punktutsläpp till vatten

HANDBOK 2010:3

NATURVÅRDSVERKET
ISBN 978-91-620-0172-8
ISSN 1650-2361

En handbok med vägledning om bestämning av
egenskaperna hos utsläpp av avloppsvatten

Med hjälp av biologiska tester och kemiska analyser kan man påvisa förekomst av miljöfarliga ämnen i industriellt avloppsvatten. Det kan vara ämnen som är svårnedbrytbara, giftiga eller som ansamlas i levande organismer.

Tekniken har använts länge i Sverige. Den har gjort och gör nytta i vår miljövard.

Baserat på de samlade svenska erfarenheterna och på den internationella utvecklingen har de tidigare anvisningarna nu reviderats. Bland förändringarna märks en uppdaterad metodlista och en utvidgad miljöriskbedömning.

Vägledningen vänder sig främst till tillsyns- och provningsmyndigheter, till Naturvårdsverkets egna handläggare och till användare som industri, reningsverk och uppdragslaboratorier.

