

Inverkan av laktestförhållanden, samt antagonistiska och ekotoxiska effekter av makroelement vid avfallsklassificering av askor

Ola Wik, Magnus Breitholtz, Kristian Hemström, Margareta Linde, Sara Stiernström

**Inverkan av laktestförhållanden, samt
antagonistiska och ekotoxiska effekter av
makroelement vid avfallsklassificering av askor**

**Ecotoxicological classification of ash – impact of
leaching conditions and antagonistic and ecotoxic
effects of macro elements on ash leachate toxicity**

Ola Wik, Magnus Breitholtz, Kristian Hemström, Margareta Linde,
Sara Stiernström

Q9-708

VÄRMEFORSK Service AB
101 53 STOCKHOLM · Tel 08-677 25 80
November 2011
ISSN 1653-1248

Abstract

Detta projekt har visat att LC₅₀-värden med avseende på akuttoxicitet, och NOEC-värden med avseende på subkronisk toxicitet för kräftdjuret *N. spinipes* för vissa ämnen som normalt inte klassificeras som farliga, K och A1, är lägre än de halter man kan förvänta sig i många asklakvatten som genererats genom lakning vid L/S 10 (liquid/solid ratio). Detta är viktigt att ta hänsyn till om biologiska tester används vid faroklassificering av askor med avseende på ekotoxicitet. Annars finns det en risk att klassificeringen sker på felaktiga grunder. Vidare visade projektet att val av partikelstorlek, pH och L/S-kvot vid beredning av lakvatten för ekotoxicitetstester kan ha stor inverkan på asklakvattnets sammansättning och därmed på hur materialet kan komma att klassificeras. Det i projektet föreslagna laktestet vid L/S 1000 för beredning av asklakvatten för ekotoxikologisk faroklassificering gav resultat med acceptabel repeterbarhet.

Sammanfattning

Detta projekt är en direkt fortsättning på tidigare utförda studier med det övergripande syftet att ta fram ett vetenskapligt väl grundat underlag till val av lakmetodik och ekotoxikologisk testning vid farobedömning av askor. Underlaget ska vara ett stöd till kommande vägledningar nationellt och internationellt. Specifika mål med detta projekt var att utvärdera: i) betydelsen av parametrar vid lakning som kan påverka ämnessammansättningen i lakvattnet (partikelstorlek, pH, L/S-kvot); ii) effekten av askors innehåll av ämnen som vanligen inte klassificeras som farliga, men som förekommer i höga halter i askklakvatten och därmed kan ge toxisk respons vid ekotoxikologisk testning; iii) om förekomsten av Ca i lakvatten kan leda till att den toxiska effekten av ämnen som t.ex. Cu och Pb blir lägre än den förväntade sammanlagda effekten av de enskilda ämnena; iv) den subkroniska toxiciteten av enskilda ämnen som i tidigare studier har misstänkts stå för en större del av testade askklakvattens inneboende fara.

Utvärdering av lakparametrar på ämnessammansättningen i lakvattnet gjordes genom lakning av en bottenaska från avfallsförbränning (slaggrus) under olika betingelser;

- med olika lakmetoder (skak och pH-stat)
- vid olika grad av nedkrossning (<4 mm, < 1 mm och < 0,125 mm)
- vid olika pH (askans naturliga (pH 10) och pH 7)
- vid olika L/S-kvoter (L/S 10 och L/S 1000)

Valet av lakparametrar baserades på i) den standardmetod som finns för beredning av lakvatten till ekotoxikologisk testning (EN 14735); skaktest vid naturligt pH och L/S 10, samt ii) på det förslag på lakmetodik för avfallsklassificering som utarbetades i Avfall Sverige (2009); pH-stattest vid pH 7 och L/S 1000. Det senare avser att till viss del harmonisera avfallslagstiftningen med kemikalielagstiftningen.

Förekomst av samverkande effekter mellan olika vanligt förekommande ämnen i askklakvatten (Ca, K, Pb och Cu), utvärderades med akuttoxicitetstester med kräftdjuret *Nitocra spinipes* på syntetiska lakvatten med tillsats av kända mängder av olika ämnen och blandningar av ämnen. Samma art användes även för att studera den subkroniska toxiciteten (larvutveckling) av Ca, K, Pb, Al, Cu och Zn. Baserat på i denna studie framtagna data om *Nitocra spinipes* känslighet för olika metallhalter gjordes en ny utvärdering av resultat från toxicitetstester på askklakvatten som genomförts tidigare Värmeforsk och Avfall Sverige projekt i syfte att försöka förklara de observerade toxiska effekterna.

Resultaten visade att lakning med skaktest och det mest nedkrossade materialet (<0,125 mm) genererade det potentiellt mest toxiska lakvattnet baserat på beräknat toxicitetsindex (TI). Lakning vid slaggrusets naturliga pH (cirka pH 10) genererade ett teoretiskt mer toxiskt lakvatten (högre TI) än då lakning utfördes vid pH 7. Detta kan till övervägande del förklaras av att utlakningen av Al från det studerade slaggruset, som helt dominerade den beräknade toxiciteten vid pH 10, minskade kraftigt vid pH 7. Lakning vid L/S 1000 gav som väntat upphov till ett mindre toxiskt lakvatten (lägre beräknat TI), och därmed ett mindre konservativt underlag för klassificering av

materialet, än då lakning gjordes vid L/S 10. Ökning av L/S vid lakning med två tiopotenser minskade emellertid endast TI i lakvattnet med cirka en tiopotens.

Förhöjda halter av K, Cl och DOC upptäcktes i blankprover från de pH-statiska laktesterna. Denna kontaminering stör utvärdering av både kemiska och biologiska data och kan till exempel påverka biotillgänglighet av ämnen eller orsaka samverkande toxiska effekter i biotesterna. En sluten pH-statisk lakmetod, baserat på CEN/TS 14429, rekommenderas därför vid framtida ekotoxikologiska klassificeringar av askklakvatten för att undvika kontaminering.

De akuta testerna med *N. spinipes* visar att vissa ämnen verkar kunna interagera. Förutom en interaktion mellan K och Ca, där K förefaller styra toxiciteten av de två, är dock inte interaktionerna (mellan Cu och Pb samt Ca och Cu) av den grad att de bör medföra något betydande problem för tolkningen av toxicitetsdata vid karaktärisering av askklakvatten baserat på akuta toxtester med *N. spinipes*. De subkroniska testerna med enskilda ämnen visar att toxiska effekter (NOEC) för K, Ca, och Al vid halter lägre än de man kan förvänta sig i många askklakvatten (då lakning sker vid L/S 10 vilket föreskrivs i EN 14735). Detta är viktigt att ta hänsyn till vid faroklassificering och riskbedömning av askor med avseende på ekotoxicitet för att undvika att klassificeringen eller riskerna bedöms på felaktiga grunder.

Baserat på resultaten från de subkroniska testerna med enskilda ämnen kunde möjliga förklaringar göras över vilka ämnen som orsakat observerade subkroniska effekter för en majoritet av de askklakvattnen som studerats i tidigare utförda Värmeforsk- och Avfall Sverige-projekt. För tre askor kunde K förklara observerad lakvattentoxicitet, för två askor Al, och för en aska kunde K i kombination med Al förklara observerad lakvattentoxicitet. Mer traditionellt erkända farliga ämnen, som Pb, Cu och Zn, verkar ha haft ringa betydelse för observerad subkronisk toxicitet för *N. spinipes* i dessa tidigare studerade askklakvatten. För 2 askor som utgör flygaskor kan ingen individuell metall tydligt förklara den observerade subkroniska toxiciteten. En av dessa flygaskor (torvflygaska) hade mycket låg totalhalt av miljöfarliga tungmetaller.

För klassificering av avfall med avseende på ekotoxicitet rekommenderas det att lakning görs vid höga L/S för att till viss del harmonisera klassificeringen med kemikalielagstiftningen. I kemikalielagstiftningen klassificeras kemiska ämnen med avseende på ekotoxicitet utifrån effekter vid 1, 10 och 100 mg/l (motsvarande L/S 1 000 000, 100 000 och 10 000). På grund av avfalls ofta heterogena, och/eller okända, sammansättning kan inte testmetoder för kemikalier användas rakt av utan måste anpassas för att vara tillämpbara för avfall (bl.a. lägre L/S). Denna studie visade att lakning av slaggrus vid L/S 1000 gav resultat med acceptabel kvalitet avseende repeterbarhet. För att ytterligare harmonisera testmetoderna för faroklassificering med kemikalielagstiftningen rekommenderas det att lakning görs vid avfallets naturliga och minst två ytterligare pH-värden; förslagsvis pH 6 och 8,5. Efterföljande ekotoxtestning kan utföras med ett flertal testorganismer i detta pH-intervall.

Nyckelord: avfallsklassificering, avfallsförordningen, aska, biotest, laktest

Summary

This project is a direct continuation of previously performed studies with the overall objective to develop a scientifically well-founded basis for the choice of leaching methodology and ecotoxicological testing for hazard assessment of ashes. Specific objectives of this project was to assess: i) the importance of parameters during leaching that may affect substance composition and availability in the leachate (particle size, pH, L/S ratio), ii) the effect of substances in ashes that are usually not classified as hazardous, but are present in high concentrations in ash leachate and thus may cause a toxic response in ecotoxicological testing; iii) if the presence of Ca in the leachate can make the toxic effects of substances such as Cu and Pb lower than the expected cumulative effect of the individual subjects; iv) the subchronic toxicity of individual substances suspected to account for a majority of the inherent hazard of ash leachates.

Evaluation of leaching parameters on substance composition of the leachate was made by leaching of a bottom ash from municipal solid waste incineration (MSWI) under different conditions;

- with different leaching methods (batch and pH-static test)
- at different levels of crushing (<4 mm, <1 mm and <0.125 mm)
- at different pH (natural ash (pH 10) and pH 7)
- at different L/S ratios (L/S 10 and L/S 1000)

The choice of leaching parameters was based on i) the standard method available for preparation of the leachate for ecotoxicological testing (EN 14735); batch tests at the waste natural pH and L/S 10, and ii) on the proposed leaching methodology for classification of waste that was presented in Avfall Sverige (2009); pH-static test at pH 7 and L/S 1000. The latter test aim at partially harmonize the legislation on waste with the legislation on chemicals.

The presence of synergistic effects between various common substances in ash leachates (Ca, K, Pb and Cu), was evaluated by acute toxicity tests with the crustacean *Nitocra spinipes* on synthetic leachate with addition of known quantities of various substances and mixtures. The same species was also used to study the subchronic toxicity (larval development) of Ca, K, Pb, Al, Cu and Zn. Based on data produced in this study, a new evaluation of test results from subchronic tests on *N. spinipes* on ash leachates from previous studies was done in an attempt to explain the observed toxic effects.

The results showed that leaching with batch tests and the most crushed material (<0.125 mm) generated the most potentially toxic leachate based on calculated toxicity index. Leaching at the MSWI bottom ash natural pH (around pH 10) generated a theoretically more toxic leachate, based on the calculated toxicity index (TI), than when leaching was done at pH 7. This can largely be explained by decreased leaching of Al, which completely dominated the calculated toxicity at pH 10, when leaching was done at pH 7. Leaching at L/S 1000 generated, as expected, a less toxic leachate (lower calculated TI), and thus a less conservative basis for the classification of the material, than when leaching was done at L/S 10. However, increase in L/S during leaching with two orders

of magnitude only resulted in a decrease of TI in the leachate by approximately one order of magnitude.

Elevated levels of K, Cl and DOC were detected in blank samples from the pH-static leaching tests. This contamination interferes with the evaluation of both chemical and biological data. An alternative, closed, leaching method where pH adjustment is done by initial addition of acid/base (CEN/TS 14429) is recommended as an alternative method in which the source of contamination is eliminated.

The acute tests with *N. spinipes* showed that some substances seem to be able to interact. K and Ca seem to interact, and K appears to control the toxicity of the two. However, the other investigated interactions (between Cu, Pb and Ca and Cu) should not present a significant problem when interpreting toxicity data from acute toxicity tests with *N. spinipes* on ash leachates. The subchronic tests with individual substances indicate that effect levels (NOEC) for K, Al and Pb is lower than levels observed for these elements in many ash leachates (when leaching is done at L/S 10 as prescribed in EN 14735). This is important to take into account in ecotoxicological hazard classification and risk assessment of ash in order to avoid classification or risk assessed errors.

Based on the results from the subchronic tests on individual subjects, possible explanations of which substances caused the observed subchronic effects could be determined for a majority of the ash leachates studied in previously performed Värmeforsk and Avfall Sverige projects. For three ashes K could explain the observed leachate toxicity, for two ashes Al, and for one ash K in combination with Al could explain the leachate toxicity. More traditionally recognized hazardous substances, such as Pb, Cu and Zn, appear to have had a minor role in the observed subchronic toxicity to *N. spinipes* in the previously studied ash leachates. For two fly ashes, no individual metal can clearly explain the observed subchronic toxicity. One of these (a peat fly ash) had very low total content of toxic heavy metals.

When classifying waste with regard to ecotoxicity, it is recommended that the leaching is done at high L/S ratios in order harmonize the waste classification with the legislation on chemicals. The results from this study showed that leaching of MSWI bottom ash at L/S 1000 gave results of acceptable quality in terms of repeatability.

Keywords: waste classification, Directive on waste, ash, biotest, leaching

Executive summary

Introduction

According to the Directive on waste (Directive 2008/98/EC) the classification of waste as hazardous waste should be based on the Community legislation on chemicals, in particular concerning the classification of mixtures as hazardous. This directive also expresses the importance to encourage a harmonised classification of waste to ensure the harmonised determination of hazardous waste within the Community. Pure chemicals (pure substances) and mixtures (mixtures of substances) should be classified according to the Regulation No 1272/2008 (CLP) (European Commission 2008), which follows the UN's Globally Harmonized System (GHS) for classification and labelling of chemicals. This system includes harmonised criteria for the classification of substances and mixtures according to their physical, health and environmental hazards and provides a basis for harmonisation of rules and regulations on chemicals at national, regional and worldwide level. Although the full enforcement of CLP for mixtures is not until 2015, any proposed hazard classification system for wastes should be compatible with CLP to avoid the need for major changes in the near future. Hazard classification, according to CLP and GHS, is done on the basis of the intrinsic properties of the chemicals. This is in line with hazardous classification of waste and the hazard criteria H14 on the European Waste List, which describes the ecotoxicological potential or environmental hazards as an intrinsic property of the waste. The classification of chemicals as hazardous is independent of the usage of the chemical, and is strictly regulated under the schemes described in the context of CLP.

Aims and objectives

The present study is a continuation of earlier projects made by the project group. The overarching aim of these projects has been to develop a sound scientific basis for choice of leaching and ecotoxicological test methods for hazard classification of ash materials. Specific objectives of present projects have been to evaluate:

1. the importance of leaching parameters which may influence composition and bioavailability of elements present in ash eluates (i.e. particle size, pH and L/S ratio)
2. the ecotoxicological potential of elements normally not classified as hazardous but which may be present at levels high enough to contribute significantly to the overall ecotoxicological effects of the complex eluates
3. if the presence of Ca (and K?) may reduce the ecotoxic potential of elements normally classified as hazardous (i.e. Cu and Pb)
4. the subchronic toxicity of individual elements, which in earlier studies have been suspected to contribute significantly to the observed toxicities of ash eluates.

Materials and methods

Leaching and chemical analysis

The evaluation of leaching parameters on the composition of elements present in the ash eluates was performed by leaching of a bottom ash from waste incineration under the following conditions:

- with different leaching methods (batch test method and pH static)
- at different degrees of crushing (<4 mm, <1 mm and <0.125 mm)
- at different pH (pH 10, which is the pH of the original ash, and pH 7)
- at different L/S ratios (L/S 10 and L/S 1000)

The choice of leaching parameters was based on i) a standard procedure for preparation of eluate for ecotoxicological testing (i.e. EN 14735) – batch test at pH 10 and L/S 10; and ii) a proposal presented by the project group in Avfall Sverige (2009) – pH static test at pH 7 and L/S 1000. The latter test was chosen in an attempt to harmonize waste and chemical regulation. The influence of leaching parameters was evaluated by calculating the Toxic Index (TI) from previously generated chemical and acute and chronic ecotoxicological data. TI was calculated based on measured levels of selected elements and effect values (LC50 for acute and NOEC for subchronic) for the same elements, either obtained from the literature or the project group. $TI > 1$ denotes that a specific eluate contains elements in concentrations high enough to cause a toxic effect. For comparison, we also calculated a “true” TI (denoted Toxic Unit (TU) in figures) based on the results from ecotoxicological test results (LC50 or NOEC) on the ash leachate in question in Avfall Sverige (2009). If LC50 for a specific eluate is 1% the TU value for this eluate is 100 (1/0.01).

The solid ash material had previously been analysed for total levels of elements, TOC, TIC (Avfall Sverige 2009). Eluates generated in this study were sent to ALS Scandinavia for analysis of elements (modified EPA-method 200.7 [ICP-AES] and 200.8 [ICP-SFMS]), anions, DOC and TIC.

Ecotoxicity testing

The evaluation of potential element interactions and subchronic toxicities if individual elements were based on ecotoxicological studies with the crustacean *Nitocra spinipes*, a species which in our previous studies (Avfall Sverige, 2008; 2009; Värmeforsk, 2009 and Stiernström et al., 2011) has been proven to be very sensitive to ash eluates and for which relatively much ecotoxicological data is available in the literature. A standard acute toxicity test (SIS, 1991) was used to study elements interactions and a novel larval development test (Breitholtz and Bengtsson, 2001; Breitholtz et al., 2007) was used to study subchronic toxicities of individual elements. The latter test is currently under evaluation to become an ISO-standard.

Since our previous studies have indicated potential element interactions in the ash eluates the following combinations of elements were tested using the acute toxicity test:

- K and Ca
- Cu and Ca
- Pb and Cu
- Pb and Cu and Ca

Our previous studies have also indicated that elements normally not classified as hazardous, i.e. K, Ca and Al, contribute significantly to the overall observed subchronic toxicities of ash eluates. These findings have mainly been based on comparisons (hazard quotients) between measured levels of the elements in the ash eluates and literature acute toxicity data for the same elements on *N. spinipes*. For some eluates also elements normally classified as hazardous (i.e. Cu, Zn and Pb) have likely contributed to the observed toxicities. In order to investigate which elements that in fact were responsible for the subchronic toxicities of the ash eluates, all the six above mentioned elements were tested individually using the larval development with *N. spinipes*.

Briefly, the larval development test is a test which studies the fraction of larvae reaching metamorphosis over a test period of 5-7 days, giving an estimate of the rate of development in treatments and controls. The test is a semi-static test, which means test media (natural brackish water) is renewed to 70% and animals fed (microalgae) every second day. Stock solutions of Ca, K, Cu, Zn and Pb were prepared by dissolving the elements in brackish water, which were used throughout the tests.

Results and discussion

Leaching

Our results show that leaching with the batch method and the finest material (<0.125 generated the most toxic eluate based on calculated TI (see 0). Leaching at the natural pH (approximately 10) of the bottom ash resulted in a theoretically more toxic eluate (higher TI) than at pH 7 (see Figure 2). This can mainly be explained by the fact that the leaching of Al, which dominated the calculated toxic contribution, was drastically reduced at pH 7. As expected, leaching at L/S 1000 resulted in a less toxic eluate and hence a less conservative basis for classification of the material as compared to leaching at L/S 10 (see Figure 2). However, an increase of L/S by two orders of magnitude only resulted in a decrease of TI by one order of magnitude.

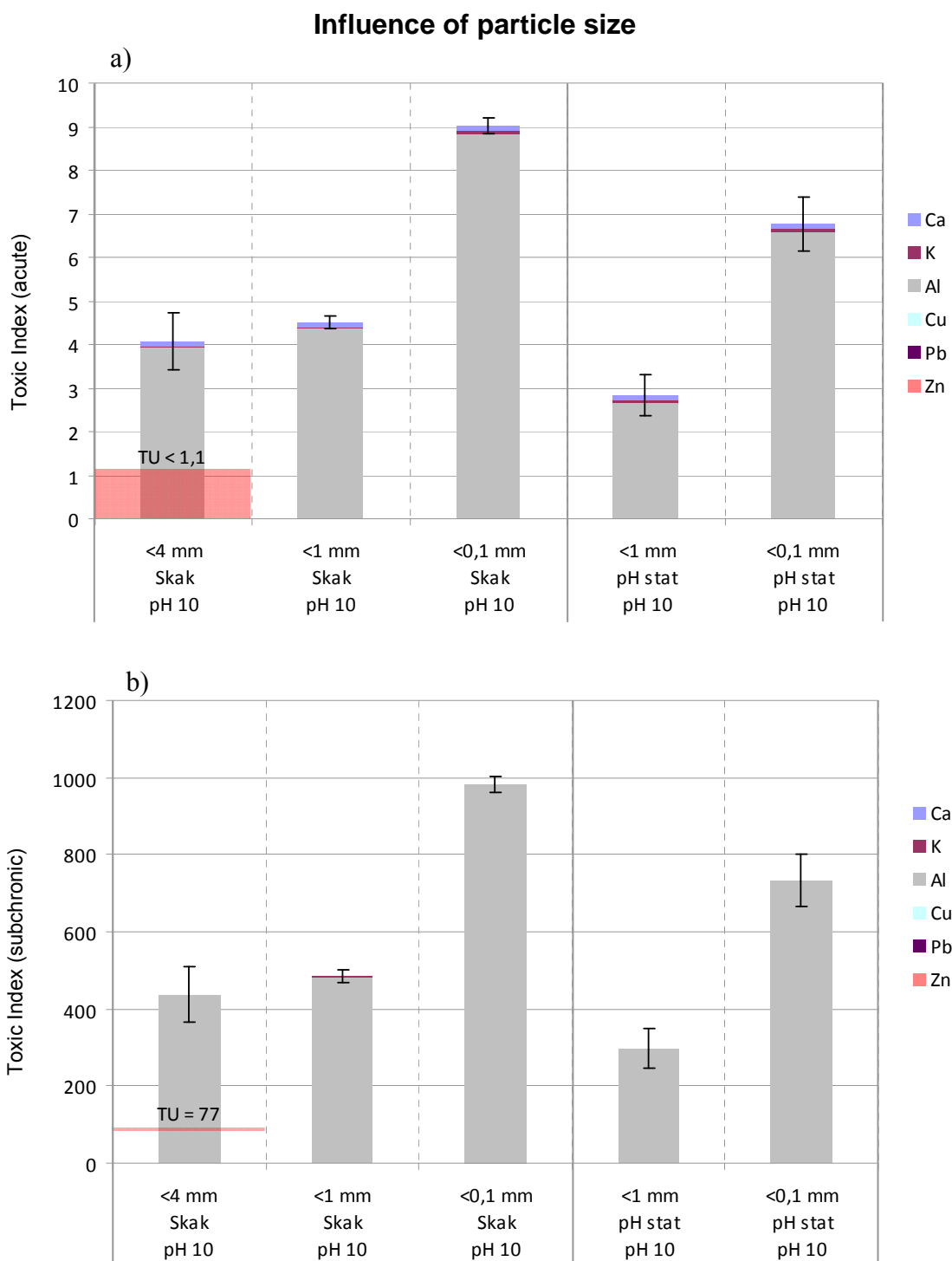


Figure 1. Calculated toxicity index (TI) for a) acute and b) subchronic toxicity on *N. spinipes* for leachate from leaching tests performed with different particle size fractions in batch and pH-static tests. L/S was 10 and pH 10 (natural pH) in all tests. TI was calculated for Ca, K, Al, Cu, Pb and Zn. The bars show means and the error bars

standard deviation ($n=3$) for total TI. The figure also shows the toxic response for *N. spinipes* (TU) determined on leachate from the bottom ash in Avfall Sverige (2009).

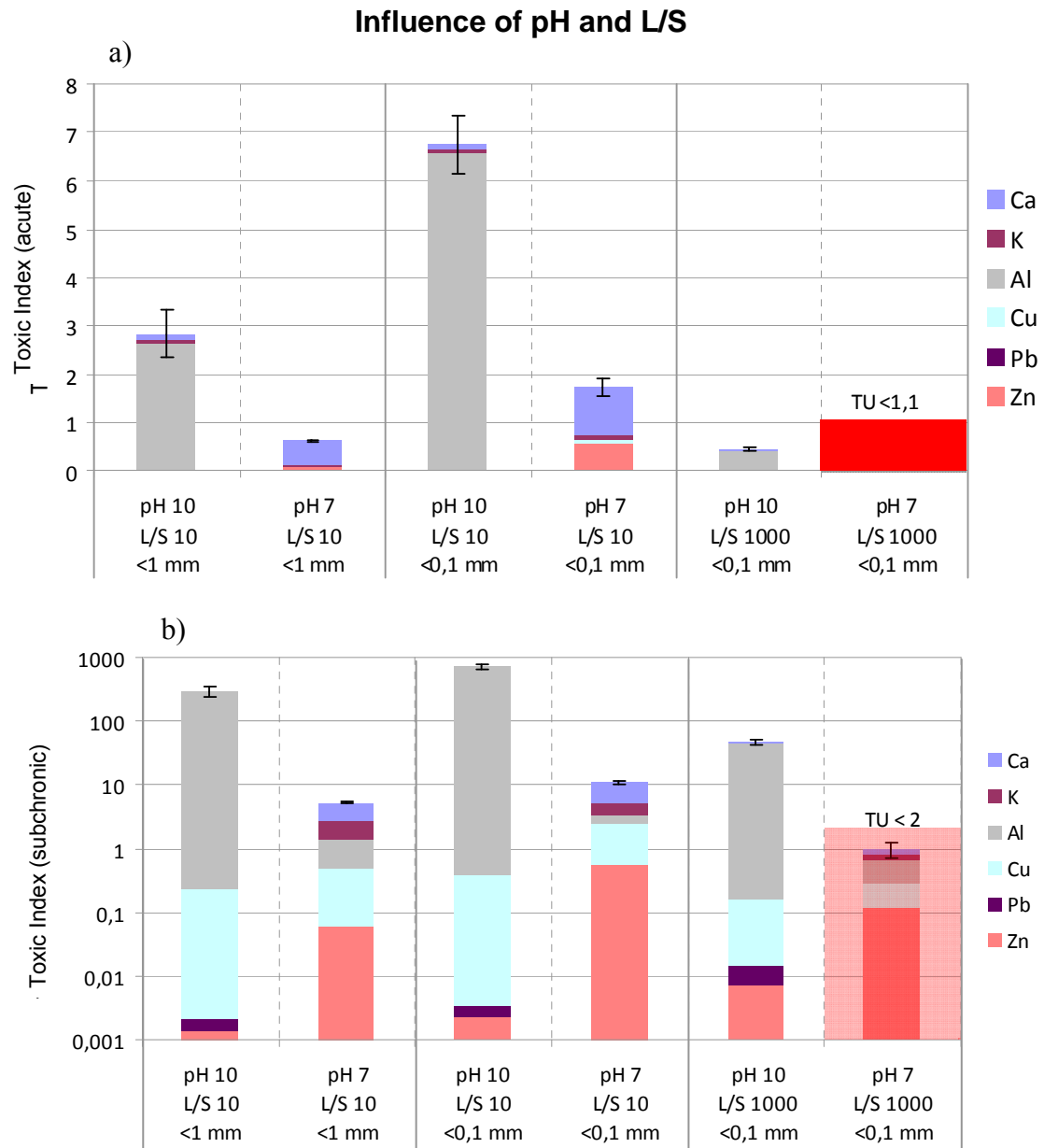


Figure 2. Calculated toxicity index (TI) for a) acute and b) subchronic toxicity on *N. spinipes* for leachate from leaching tests performed with different pH and L/S in pH-static tests. TI was calculated for Ca, K, Al, Cu, Pb and Zn. The bars show means and the error bars standard deviation ($n=3$) for total TI. The figure also shows the toxic response for *N. spinipes* (TU) determined on leachate from the bottom ash in Avfall Sverige (2009).

Leaching with the pH static test with continuous pH-control (based on SIS-CEN/TS 14997) resulted in contamination of the blanks by K, Cl and DOC. This contamination obstructs the interpretation of both leaching and ecotoxicity testing in the sense that

bioavailability of certain elements may be affected. Methods in which pH adjustments with take place prior to leaching (based on CEN/TS 14429) may therefore be a better alternative to avoid contamination problems.

Ecotoxicity testing

The acute toxicity tests with *N. spinipes* show that some of the tested elements may interact. Except for the interaction between K and Ca, which seems to be directed by K, these interactions are weak and should not obstruct the interpretation of toxicity data related to classification of ash materials, at least not when using the acute toxicity test with *N. spinipes*.

The subchronic tests on individual elements with *N. spinipes* show effect concentrations for K, Pb and Al that are lower than levels of the same elements commonly analysed in ash eluates (i.e. when leaching at L/S 10, which is proposed in EN 14735 *Characterization of waste. Preparation of waste samples for ecotoxicity tests*). This finding is of major importance to avoid miss-classification of ash materials based on ecotoxicity testing. Based on the results from the subchronic tests in the current study we were also able to verify which of the six pinpointed elements that in fact were responsible for the observed toxicities in our previous projects financed by Värmeforsk and Avfall Sverige. For two out of 12 of these previously tested ash eluates no subchronic toxicity was observed; for five eluates the observed toxicity can be explained by the presence of K, either alone or in combination with Al and Pb; for two eluates the observed toxicity can be explained by the presence of Al and, finally, for three eluates no responsible element or combination of elements was identified. Elements which are traditionally considered as hazardous to aquatic test organisms only had marginal influence on the overall toxicity for most of the ash eluates.

Implications for classification of ash materials

Based on the findings from the present and earlier studies we recommend for classification of ash materials, and likely also other types of waste, that leaching should be performed at L/S ratios that harmonize with EU chemical regulation. Chemicals and preparations of chemicals should according to the chemical regulation be classified based on the following effect thresholds: 1, 10 and 100 mg/L, which correspond to L/S ratios of 1 000 000, 100 000 and 10 000, respectively. However, due to the inherent complexity and heterogeneous composition of waste, these prerequisites for chemicals and preparations must be adjusted for adequate usage also within the field of waste classification (e.g. lower L/S ratios). Our results showed, for instance, that leaching of a bottom ash at L/S 1000 resulted in an acceptable quality with respect to repeatability. To further harmonize test methods used for hazard classification of waste and chemicals and preparations, we recommend that the waste classification based on ecotoxicological testing should be the waste material's natural pH as well as two additional pH values: as a suggestion pH 6 and 8.5, which are within tolerance limits for many aquatic test organisms.

Future perspectives

A number of interesting future research questions have arisen during this and earlier projects, of which some of these are highlighted below:

- Evaluate if leaching at L/S 1000 and L/S 10 000 give equally repeatable results for other types of ash materials.
- Test robustness (sensitivity) and reproducibility (variation between laboratories) of the proposed pH static test at L/S 1000 for subsequent ecotoxicological testing.
- Evaluate potential differences of the toxicity in ecotoxicity tests when testing at different pH (our proposal is 6 and 8.5).
- Further evaluate how precipitated Al affects aquatic test organisms.
- Evaluate whether also other test organisms respond significantly to elements normally not classified as hazardous (e.g K, Ca and Al).
- Improve our knowledge concerning partitioning of metal species between truly dissolved fractions and fractions that are e.g. difficult to get into solution by using passive samplers (e.g. DGT filters).
- More detailed studies on potential toxicological interactions between common elements in ash eluates in subchronic tests.

Innehållsförteckning

INTRODUCTION.....	VII
AIMS AND OBJECTIVES	VII
MATERIALS AND METHODS	VIII
RESULTS AND DISCUSSION	IX
1 INLEDNING	1
1.1 BAKGRUND	1
1.2 MÅLSÄTTNINGAR	4
2 MATERIAL OCH METOD	6
2.1 UNDERSÖKTA MATERIAL	6
2.2 PROVBEREDNING AV SLAGGRUSET INFÖR LAKNING.....	7
2.3 FÖRSÖKSUPPSTÄLLNING FÖR UTVÄRDERING AV INVERKAN AV LAKTESTFÖRHÅLLANDE VID AVFALLSKLASSIFICERING AV ASKOR	8
2.4 SKAKTEST.....	10
2.5 PH-STATTEST	10
2.6 KVALITETSKONTROLL.....	10
2.7 EKOTOXICITETSTESTER FÖR UTVÄRDERING AV ANTAGONISTISKA OCH EKOTOXISKA EFFEKTER AV MAKROELEMENT	10
2.8 KEMISKA ANALYSER.....	12
2.9 DATABEHANDLING OCH STATISTISKA BERÄKNINGAR	13
3 RESULTAT OCH DISKUSSION.....	14
3.1 INVERKAN AV LAKTESTFÖRHÅLLANDE PÅ LAKVATTNETS BERÄKNADE EKOTOXICITET	14
3.2 INVERKAN AV LAKTESTFÖRHÅLLANDE PÅ LAKVATTNETS KEMISKA SAMMANSÄTTNING.....	21
3.3 KVALITETSKONTROLL VID LAKNING	23
3.4 ANTAGONISTISKA OCH EKOTOXISKA EFFEKTER AV MAKROELEMENT	26
3.5 SUBKRONISKA TESTER – TOXICITET AV ENSKILDA ÄMNEN	30
4 SLUTSATSER.....	36
5 REKOMMENDATIONER.....	38
6 FÖRSLAG TILL FORTSATT FORSKNINGSPÅRBEJDE.....	39
7 LITTERATURREFERENSER.....	40

Bilagor

- A ANALYSRESULTAT
- B INVERKAN AV LAKPARAMETRAR PÅ SPECIFIKA ÄMNEN
- C KVALITETSKONTROLL - KEMISKA ANALYSER AV TESTMEDIUM FRÅN SUBKRONISKA TESTER

1 Inledning

Statens geotekniska institut (SGI) och Institutionen för tillämpad miljövetenskap vid Stockholms Universitet (ITM) har i olika projekt samfinansierade av Värmeforsk, Avfall Sverige och Svenska Energiaskor under senare år genomfört ett antal kemiska och biologiska karaktäriseringar av förbränningsaskor med syfte att studera bakomliggande orsaker till identifierade faror hos de testade askorna (Avfall Sverige, 2008, Värmeforsk 2009a, Avfall Sverige, 2009). Den huvudsakliga målsättningen med dessa projekt har varit att skapa underlag för framtagandet av ett vetenskapligt och i möjligaste mån standardiserat underlag för klassificering av avfall enligt avfallsförordningen (SFS 2001:1063) vad gäller bedömning av faroegenskapen H14, ”ekotoxiskt”. Under 2009 avslutade projektgruppen ett större arbete inom ramen för Avfall Sveriges utvecklingsprogram (Avfall Sverige, 2009). Resultaten från föreliggande projekt bör ses som en direkt fortsättning av det arbetet. Avfall Sverige (2009) hade som huvudsyfte att, utifrån erfarenheter från tidigare genomförda projekt, vidareutveckla lämpliga testmetoder för ekotoxikologisk faroklassificering av askor. Specifika mål med projektet var att studera:

- möjligheten att anpassa OECD:s testmetod för upplösning av svårösliga metaller (OECD, 2001) till askor för beredning av lakvatten till efterföljande ekotoxikologisk testning och därmed i viss mån harmonisera avfallslagstiftningen med kemikalielagstiftningen;
- möjligheten att ersätta sötvattensarter känsliga för salinitet och utnyttja relevanta bräckvattenarter (makroalgen *Ceramium tenuicorne*) i testbatteriet för utvärdering av ekotoxicitet hos lakvatten från askor;
- om åldring kan ge upphov till en faroreduktion av en torvflygaska.

Huvudsyftet med föreliggande Värmeforsk-projekt var att fortsätta arbetet med att ta fram ett vetenskapligt väl grundat underlag till val av lakmetodik och ekotoxikologisk testning vid farobedömning av askor. Projektet syftar till att följa upp fr.a. två aspekter som diskuterats i tidigare nämnda projekt; i) vidare utvärdering av möjligheten att använda OECD:s testmetoder (OECD, 2001) vid faroklassificering av askor och ii) vidare utvärdera vår misstanke i Avfall Sverige (2008) och i Värmeforsk (2009) om att ämnen som normalt inte klassificeras som farliga (K och Ca) utgör en stor del av den toxicitet som observerades i de biologiska undersökningarna på asklakvatten. Eventuella toxiska effekter orsakade av ämnen som inte klassificeras som farliga skulle kunna ha en stor betydelse för tolkningen och användandet av faroegenskapen H-14 i nuvarande avfallslagstiftning. Vissa pusselbitar saknas dock för att verkligen kunna fastställa att så är fallet. Eftersom det pågår ett betydande arbete med att ta fram styrdokument för hur H-14-egenskapen ska utvärderas och användas inom EU, är det bråttom med att få fram nya rön som kan påverka detta arbete. Projektets syften och målsättningar beskrivs mer i detalj i avsnitt 1.2.

1.1 Bakgrund

I Sverige implementeras EU-harmoniserad avfallslagstiftning genom avfallsförordningen (SFS 2001:1063). Förordningens bilaga 3 beskriver hur ett avfalls

farlighet ska klassificeras utifrån fjorton olika faroegenskaper (H1-H14), där H14 avser miljöfarlighetsegenskapen ”ekotoxisk” för en eller flera miljösektorer. Bilaga 2 till förordningen är en förteckning över branschtypiska avfall där det även anges vilka avfall som skall betraktas som farliga avfall. Vissa avfallstyper kan ha s.k. dubbla ingångar, d.v.s. att avfallet kan betraktas som både farligt och icke farligt och att en klassning av avfallet måste baseras på avfallets faroegenskaper (H1-H14). För många ämnen som förekommer i betydande halter i askor (till exempel zink, koppar och bly) är kriterier för klassificering med avseende på ekotoxiska egenskaper (H14) ofta lägre än för andra egenskaper (H1-H12) och en bedömning av de ekotoxiska egenskaperna blir därför kritiska för avfallets klassificering. Under senare år har flera olika rekommendationer om hur en avfallsklassificering kan utföras baserat på en kemisk analys av ett fast materials sammansättning getts ut av exempelvis Avfall Sverige och Värmeforsk (se t.ex. Avfall Sverige, 2004; 2005; 2007a och 2007b samt Värmeforsk 2004). Även Naturvårdsverket har på senare tid publicerat rekommendationer på sin hemsida om hur en sådan klassificering kan genomföras (Naturvårdsverket, 2011). En nackdel med de föreslagna metoderna är att det från en grundämnesanalys (metallanalys) är svårt att bestämma i vilken form och tillgänglighet ämnena föreligger. Eftersom grundämnets förekomstform har stor betydelse för hur avfall skall klassificeras försvårar detta för avfallsinnehavaren (producenten) att göra en korrekt klassificering av avfallets eventuella farliga egenskaper. Konservativa ansatser om att anta att ämnet föreligger i sin mest toxiska form riskerar att leda till en felaktig och olämplig klassificering.

Faroegenskaper i bilaga 3 till Avfallsförordningen baseras på samma principer som gäller för klassificering och märkning av kemiska produkter. Förutsättningarna för klassificering skiljer sig emellertid åt mellan avfall och kemiska ämnen och blandningar bl.a. p.g.a. att ämnessammansättningen hos avfallsmaterial och de ingående ämnas egenskaper, till skillnad från kemiska ämnen, ofta är helt eller delvis okända. Ämnessammansättningen hos avfall kan dessutom variera kraftigt mellan olika produktionsanläggningar och från tillfälle till tillfälle. Testmetoder för klassificering av avfall kan därför behöva modifieras och anpassas jämfört med dem som används för kemiska ämnen och blandningar. Vad avser klassificering av avfall råder det, såväl i Sverige som inom övriga EU, stor oklarhet avseende vilka ekotoxikologiska testmetoder som kan användas vid klassificering enligt H14, och hur resultaten av dessa test rent allmänt ska tolkas. De vanligast förekommande standardiserade ekotoxikologiska tester som används i olika sammanhang är behäftade med en del osäkerhetsfaktorer då de i allmänhet har nyttjats enbart för bedömning av enskilda kemikalier. Det finns därför ett stort behov av att utvärdera och anpassa lämpliga testmetoder för relevant ekotoxisk faroklassificering för avfall.

Enligt det nya ramdirektivet för avfall (Direktiv 2008/98/EG) bör klassificeringen av avfall som farligt avfall grundas på gemenskapslagstiftningen om kemikalier, även om vissa praktiskt grundade avsteg troligtvis kommer att kunna göras (Jan Christiansson, Naturvårdsverket, personlig kommunikation). I Sverige bereder regeringen förslaget till en ny avfallsförordning (Ds 2009:37) som kommer att implementera ramdirektivet för avfall. Reglerna för klassificering av kemikalier genomgår emellertid för närvarande en omställning i och med införande av EG-förordning om klassificering, märkning och

förpackning av kemiska ämnen och blandningar (CLP) (European Commission, 2008). CLP kommer att ersätta Kemikalieinspektionens föreskrifter (KIFS 2005:7) om klassificering och märkning av kemiska produkter och grundar sig på FN:s Globalt Harmoniserade System för klassificering och märkning av kemikalier (GHS). GHS innebär att globalt överenskomna kriterier tillämpas vid bedömningen av kemikaliers fysikaliska, hälso- samt miljöfarliga egenskaper. Metoder som tillämpas inom GHS för att testa hälso- och miljöfarlighet utvecklas genom det internationella samarbetet inom OECD. I och med införandet av det nya ramdirektivet för avfall bör alltså metoderna för klassificering av avfall som farligt avfall grunda sig på de som tillämpas inom CLP och GHS. Det har på europeisk nivå genomförts flera studier där en föreslagen metodik för att testa och klassificera avfalls ekotoxikologiska egenskaper utvärderats, däribland en stor undersökning som inkluderade en provningsjämförelse i flera olika medlemsstater (Moser et al., 2009). En stor brist i dessa studier är dock att man inte utformade testmetodiken i enlighet med de testmetoder och principer som föreskrivs i CLP och GHS. Den föreslagna metodiken, och erhållna resultat, är därmed inte förenliga med föreskrifterna i det nya Avfallsdirektivet.

Ett av syftena med Avfall Sverige (2009) var att vidareutveckla lämpliga testmetoder för ekotoxikologisk faroklassificering av askor som grundar sig på de metoder som tillämpas inom CLP och GHS genom att försöka anpassa OECD:s testmetod för upplösning av svårslösliga metaller (OECD, 2001) till askor för beredning av lakvatten till efterföljande ekotoxikologisk testning. Ett slaggrus från avfallsförbränning genomgick därför beredning med dels ett traditionellt skaktest vid L/S (liquid/solid-ratio) 10 och askans naturliga pH (pH 10), dels ett pH-stattest vid L/S 1000 och pH 7. Skaktestet är det lakttest som användes i den ovan nämnda europeiska provningsjämförelsen (Moser et al., 2009) och pH-stattestet användes för att efterlikna OECD (2001) enligt ovan. Lakvattnet från dessa beredningar testades sedan med såväl ett akut som ett subkroniskt test (LDR-test) med kräftdjuret *Nitocra spinipes*, som tidigare använts vid liknande undersökningar, samt ett tillväxthämningstest med makroalgen *Ceramium tenuicorne*, vilket tidigare inte använts för karakterisering av asklakvatten. Både testorganismerna är relevanta för tempererade områden och är tåliga för ett brett salthaltspektrum (1 and 32 ‰), vilket är av stor betydelse då asklakvatten från förbränning kan innehålla höga salthalter.

Det kanske viktigaste resultatet i Avfall Sverige (2009) – och tillika slutsatsen – är att studien tydligt visar att karakterisering av askors ekotoxiska egenskaper kan ge vitt skilda resultat beroende på om bedömningen baseras på antingen totalhalt, lakbar halt eller på bestämd toxisk effekt av asklakvatten. Det studerade slaggruset uppvisade nämligen ett mycket högt s.k. toxicitetsindex baserat på totalhalt, men lågt toxicitetsindex baserat på lakbar halt och ingen akuttoxisk effekt i toxicitetstest med *N. spinipes*. Däremot observerades en mycket hög subkronisk toxicitet i LDR-testet med *N. spinipes* men endast då lakning gjorts med skaktestet vid L/S 10 och pH 10 (före pH-justering inför toxtestet). Det i studien använda pH-stattestet, valt för att efterlikna OECD (2001), gav repeterbara resultat och kan vara en lämplig metod för beredning av lakvatten från förbränningsaskor för efterföljande ekotoxikologisk testning av farliga egenskaper. Detta möjliggör en viss harmonisering mellan gällande avfalls- och

kemikalielagstiftning. Det ska dock nämnas att det i studien användas pH-stattestet ger mycket låga L/S-förhållanden jämfört med de i OECD:s rekommendationer.

Vidare gav en ändring av lakningsförhållanden från L/S 10 och askans naturliga pH till L/S 1000 och pH 7 för det studerade slaggruset en tämligen begränsad förändring i lakvattnets akuttoxiska egenskaper; både i beräknade toxicitetsindex baserat på halt Cu, Pb och Zn i lakvattnen och i toxicitetstestet med *C. tenuicorne*. Subkronisk toxicitet med *N. spinipes* (LDR-test) uppvisade dock en mycket stor minskning då lakning utfördes med pH-stattestet jämfört med skaktestet.

Avslutningsvis visade de ekotoxikologiska undersökningarna i Avfall Sverige (2009) att ingen organism eller test var mest känsligt för samtliga asklakvatten. För att kunna göra relevanta farobedömningar där man fångar upp en mångfald av toxisk verkan hos komplexa asklakvatten rekommenderar vi därför att man använder ett biologiskt testbatteri med organismer som har olika fysiologi och känslighet för de ämnen som står för merparten av den inneboende toxiciteten.

1.2 Målsättningar

Som nämnts i inledningen av avsnitt 1 så ska resultaten från föreliggande studie ses som en direkt fortsättning på det arbete som rapporterats i Avfall Sverige (2009) och en uppföljning av framförallt två aspekter från detta och tidigare utförda projekt; i) vidare utvärdering av möjligheten att använda OECD:s testmetoder (OECD 2001) vid faroklassificering av askor och ii) vidare utvärdera misstanken i tidigare utförda projekt (Avfall Sverige, 2008 och Värmeforsk, 2009) om att ämnen som inte anses som farliga (K och Ca) utgör en stor del av den toxicitet som observerades i de biologiska undersökningarna på askor.

Syftet med föreliggande projektet är att utvärdera:

1. betydelsen av val av partikelstorlek, pH och L/S (Liquid to solid ratio) vid lakningsförfarandet på lakvattnets sammansättning och ekotoxicitet;
2. effekten av askors innehåll av ämnen som vanligen inte klassificeras som toxiska, men som förekommer i höga halter i asklakvatten och därmed kan ge toxisk respons vid ekotoxikologisk testning;
3. om förekomsten av Ca i lakvatten kan leda till att den toxiska effekten av ämnen som t.ex. Cu och Pb blir lägre än den förväntade sammanlagda effekten av de enskilda ämnena.

Utöver detta uppdrag fick projektgruppen under hösten 2009 ytterligare anslag för att mer i detalj studera enskilda ämnens (K, Ca, Pb, Al, Cu och Zn) subkroniska toxicitet i kräftdjuret *N. spinipes*. Detta för att om möjligt kunna förklara observerad toxicitet av komplexa asklakvatten i tidigare genomförda studier (Avfall Sverige, 2008; 2009 samt Värmeforsk, 2009 samt också i en nyligen publicerad artikel i Waste Management: Stiernström et al., 2011).

Den första målsättningen kan ses utgöra ett direkt underlag till lagstiftning för klassificering av avfall enligt H14. Val av testförhållande vid klassificering kan ha en direkt betydelse för efterföljande farobedömning. Den andra och tredje målsättningen är till viss del ett underlag för tolkning av ekotoxikologiska testresultat i allmänhet, men kan indirekt ha en stor betydelse som underlag för klassificering av avfall enligt H14 då ökad kunskap om testorganismerna och förbättrad möjlighet att tolka testresultaten minskar risken för felklassificering. Om toxiska responser kan förklaras och härröras till specifika ämnen i komplexa blandningar ökar möjligheten att kunna prediktera askors farlighet i framtiden samt utvärdering av risker förenat med askanvändning i anläggningar, liksom möjligheten att kunna vidta relevanta faro- och riskreducerande åtgärder.

2 Material och metod

Studiens första syfte (se avsnitt 1.2) utvärderades av SGI genom lakning, med efterföljande kemiska analyser av lakvattnet, av en förbränningsaska under ett antal olika testförhållanden. Inga ekotoxikologiska tester gjordes på dessa lakvatten utan utvärderingen baserades på resultaten från de kemiska analyserna samt på ekotoxikologiska tester som gjordes på lakvatten från samma aska i Avfall Sverige (2009).

Studiens andra och tredje syfte (se avsnitt 1.2) utvärderades av ITM genom att ett antal ekotoxikologiska tester utfördes på syntetiska lakvatten med tillsats av kända mängder av olika ämnen och blandningar av ämnen.

Resultaten från de ekotoxikologiska testerna på syntetiska lakvatten användes för att göra en djupare utvärdering av de ekotoxikologiska testresultaten från askorna som studerats i Värmeforsk (2009) samt i Avfall Sverige (2008 och 2009).

2.1 Undersökta material

Inom projektet har ett slaggrus från avfallsförbränning studerats med avseende på inverkan av laktestförhållande på lakvattnets sammansättning. Slaggruset är detsamma som aska I i Avfall Sverige (2009) se Tabell 1. Ursprunget är förbränning av avfall från hushåll och från industrier (ungefär 50/50) vid Uppsala avfallsförbränning. Magnetiska och ickemagnetiska metaller i askan är avskilda. Askan hade mognat i 3-6 månader innan den skickades till SGI. På SGI förvarades slaggruset i kylrum 4 ± 2 ° C i cirka en månad innan det provbereddes och lakades i Avfall Sverige (2009) och i cirka 6 månader innan det provbereddes och lakades i föreliggande studie.

I Tabell 1 visas en sammanställning över de askor som tidigare studerats i Värmeforsk (2009) samt i Avfall Sverige (2008 och 2009). En djupare utvärdering av de ekotoxikologiska testresultaten från dessa askor gjordes i föreliggande studie baserat på testresultaten från bestämningen av enskilda ämnens subkroniska toxicitet i kräftdjuret *N. spinipes* (se avsnitt 2.7.2).

Tabell 1. Sammanställning (ursprung, bränsle, ålder och laktest) över de askor som tidigare studerats med avseende på ekotoxicitet hos asklakvatten i Värmeforsk (2009) och i Avfall Sverige (2008); aska A-G, samt i Avfall Sverige (2009); aska H-I.

Table 1. Summary (origin, fuel, age and leaching test) of the ashes previously studied with respect to ecotoxicity in ash leachates in Värmeforsk (2009) and in Avfall Sverige (2008); ash A-G, and in Avfall Sverige (2009); ash H-I.

Benämning	Asktyp	Ursprung	Bränsle	Ålder	Laktest
A	Slaggrus	Högdalen	Hushållsavfall	ca 3 mån	Kolonntest L/S 10
B	Stabiliserad flygaska	Högdalen	Hushållsavfall	ca 1 år	Kolonntest och skaktest L/S 10
C	Färsk flygaska	Högdalen	Hushållsavfall	Färsk	Skaktest L/S 10
D	Flygaska	Telge Återvinning	Verksamhetsavfall	> 3 år	Kolonntest L/S 10
E	Blandaska – flyg- och bottenaska	Telge Återvinning	Verksamhetsavfall	> 4 år	Kolonntest L/S 10
F	Flygaska	Brista	Biobränsle	< 1 mån	Kolonntest L/S 10
G	Slaggrus	Tekniska Verken	Hushållsavfall	> 15 år	Kolonntest L/S 10
H ^a	Torvflygaska	Uppsala	Torv	Färsk/åldrad	Skaktest L/S 10
I ^b	Slaggrus	Uppsala	Hushållsavfall/ verksamhetsavfall	3-6 mån	Skaktest L/S 10 och pH-stattest L/S 1000, pH 7

^a Lakvattnets ekotoxicitet testades både på färsk aska och på aska som åldrats i laboratoriet genom tillsats av vatten följt av lagring i 28 dygn under N₂-atmosfär.

^b Materialet har använts för ytterligare undersökningar av lakegenskaper i denna rapport.

2.2 Provberedning av slaggruset inför lakning

Slaggrusets (aska I, Tabell 1) lakegenskaper testades på tre olika partikelfraktioner i föreliggande studie; <4 mm, <1 mm och <0,125 mm. Vid provberedning siktades först askan < 4 mm och partikelfraktionerna >4 mm krossades i käftkross tills >95 % var <4 mm. Den krossade fraktionen blandades med fraktionen som naturligt var <4 mm. Slaggruset innehöll inga okrossbara fraktioner >4 mm. Ett delprov togs sedan ut och siktades och krossades <1 mm sedan enligt samma princip som ovan. En del av det krossade slaggruset skickades till ALS Scandinavia för malning till <0,125 mm. Malningen utfördes med widiafat av Wolframkarbid. All neddelning av materialet till mindre portioner (till vidare provberedning och till laktester) gjordes med hjälp av spaltneddelare eller roterande neddelare.

Vattenkvoten på det provberedda materialet bestämdes i enlighet med SS-ISO 11465 till 1,8-2,2 % på fraktionerna som var <4 mm, 1,7 % på fraktionerna som var <1 mm och 1,3-1,4 % på fraktionerna som var <0,125 mm.

2.3 Försöksuppställning för utvärdering av inverkan av laktestförhållande vid avfallsklassificering av askor

I föreliggande projekt testades inverkan av laktestförhållande på de producerade lakvattnets sammansättning. Som utgångspunkt användes två olika laktester; ett skaktest (SS-EN 14735:2005) som är ett standardiserat test för beredning av lakvatten från avfall till ekotoxikologisk testning samt ett modifierat pH-stattest som utarbetades i Avfall Sverige (2009) i syfte att efterlikna under CLP rekommenderade metoder för upplösning och karakterisering av metallerföreningar (OECD, 2001) och därmed till viss del harmonisera avfallslagstiftningen med kemikalielagstiftningen. Vid detta genomförande har tre parametrar ändrats jämfört med det standardiserade skaktestet (SS-EN 14735:2005) för beredning av lakvatten från avfall till ekotoxtester. Jämfört med skaktestet har:

- partikelstorleken minskats från <4 till <0,125 mm
- Lakning har förutom vid slaggrusets naturliga pH utförts pH-statiskt vid pH 7
- L/S höjts från 10 till 1000

Inverkan av dessa förändringar på lakvattnets sammansättning och teoretiska (beräknade) ekotoxicitet studerades i föreliggande projekt.

Laktestförhållandena i det pH-stattest som utarbetades i Avfall Sverige (2009) är inte helt i överensstämmelse med OECDs rekommendationer i OECD (2001), utan har fått anpassas till vad som är praktiskt möjligt att genomföra för askor och för efterföljande ekotoxtester. L/S ska i OECD (2001) testas i tre steg; 10 000, 100 000 och 1 000 000. På laboratoriet är det emellertid praktiskt svårhanterligt att utföra lakning med mer än cirka 2-5 l lakvätska. Vid så höga L/S som >10 000 kan därför bara en mycket liten mängd av det undersökta materialet vägas in (<0,2-0,5 g). Askor är betydligt mer heterogena än de metallföreningar, som normalt testas enligt OECD (2001), och vid invägning av för små askmängder blir resultaten eventuellt inte representativa för hela materialet. Lakning vid L/S 1000 har efter samråd med laboratoriepersonalen bedömts vara maximalt genomförbart på laboratoriet för askor utan att omfattande kvalitetskontroller genomförs. Vidare ska partikelstorleken som testas enligt OECD (2001) vara den som produkten finns på marknaden i, eller om det är okänt, <1 mm. Valet av partikelstorlek <0,125 mm för askor i Avfall Sverige (2009) gjordes eftersom inverkan av materialets heterogenitet minskar med mindre partikelstorlek då små mängder vägs in. Vald partikelstorlek, <0,125 mm, är standard i Tillgänglighetstest, NT ENVIR 003 där lakning genomförs vid ca L/S 100. Ovan nämnda frånsteg från OECD (2001), val av lägre L/S och partikelstorlek vid lakningen, är förändringar som borde göra att bedömningen av materialet blir mer konservativ. Om någon ekotoxisk effekt inte observeras vid L/S 1000 borde det rimligtvis inte observeras någon vid ett högre L/S heller. Vidare föreskrivs det i OECDs rekommendationer att materialet ska testas vid det pH där utlakningen är som störst men inom det pH-intervall som vanligen

förekommer i naturen; 5,5-8,5. Utlakningen från askor för de flesta katjoniska metaller ökar med sjunkande pH inom detta intervall och är därmed högst vid pH 5,5. Vid pH 5,5 kan emellertid inga efterföljande ekotoxtester utföras på lakvattnet utan att detta pH-justeras uppåt. För att undvika pH-justering, vilket kan påverka lakvattnets sammansättning, utfördes lakning vid pH 7 i Avfall Sverige (2009). Det bedömdes då vara lämpligt pH i relation till testorganismerna tolerans i de efterföljande ekotoxtesterna. Det är dock möjligt att utföra akvatiska biotest vid pH 6 med ett flertal testorganismer och i framtida studier bör därför lakning vid ca pH 6 väljas istället. För att kunna jämföra resultaten med de i Avfall Sverige (2009) valdes dock pH 7 i denna studie. Ytterligare en skillnad mellan OECD (2001) och det pH-stattest som utfördes i Avfall Sverige (2009) är att pH justeras med hjälp av buffertlösningar och CO₂-partialtryck i OECD (2001), men genom titrering med syra i Avfall Sverige (2009). I OECD (2001) konstateras emellertid att man kan få problem i efterföljande ekotoxtester vid användning av buffertlösningar och CO₂-partialtryck och att vätskan i sådana fall måste modifieras. Detta är också något som ITM har erfårit i andra projekt där de föreslagna testorganismerna har använts. Titrering med syra borde vara ett lika bra, eller bättre alternativ, för karakterisering av askans inneboende egenskaper och beredning av lakvatten för ekotoxikologiska tester. En sammanställning över lakttesterna som utfördes inom projektet för att utvärdera inverkan av val av partikelstorlek, pH och L/S har på lakvattnets sammansättning presenteras i Tabell 2.

Tabell 2. Sammanställning av lakttester för utvärdering av effekt av partikelstorlek, pH och L/S på lakvattnets sammansättning.

Table 2 Summary of leaching tests for evaluating the effect of particle size fraction, pH and L/S on the leachate composition.

Lakmetod	L/S	pH	partikelfraktion	replikat
Skaktest	10	naturligt	<4 mm	1 ^a
Skaktest	10	naturligt	<1 mm	3
Skaktest	10	naturligt	<0,125 mm	3
pH-stat	10	naturligt	<1 mm	3
pH-stat	10	7	<1 mm	3
pH-stat	10	naturligt	<0,125 mm	3
pH-stat	10	7	<0,125 mm	3
pH-stat	1000	naturligt	<0,125 mm	3
pH-stat	1000	7	<0,125 mm	1 ^a
Blankprov	10	naturligt	-	1
Blankprov	1000	naturligt	-	1

^a Duplikat av dessa tester utfördes i Avfall Sverige (2009) och kompletteras här med ytterligare ett replikat

2.4 Skaktest

Skaktesterna utfördes i enlighet med beskrivning i SS-EN 14735:2005 (Characterization of waste - Preparation of waste samples for ecotoxicity tests). I skaktestet skakas provmaterialet med lakvätska i 24 h i ett L/S 10 förhållande (90 g TS provmaterial och 900 g vätska), varefter lakvattnet tryckfiltreras genom ett 0,45 µm cellulosanitratfilter. Som lakvätska användes avjoniserat vatten. Skaktester utfördes på tre olika partikelfraktioner; <4 mm, <1 mm samt <0,125 mm. I standarden föreskrivs att partikelfraktioner <4 mm testas.

2.5 pH-stattest

Utförandet av pH-stattesterna utgick från beskrivning i SS-CEN/TS 14997 men modifierades för att efterlikna OECDs rekommendationer för preparering av lakvatten för metaller och svårösliga metalliska föreningar (OECD, 2001). I pH-stattestet i föreliggande studie lakades provmaterialet med lakvätska under omrörning i 24 h vid i) askans naturliga pH respektive pH 7 ii) vid L/S 10 respektive 1000 samt iii) på partikelfraktioner <1 mm respektive <0,125 mm (se Tabell 2). Som lakvätska användes avjoniserat vatten och som titrand 0,1-1 M saltsyra. Lakvattnen tryckfiltrerades genom ett 0,45 µm cellulosanitratfilter.

2.6 Kvalitetskontroll

Enligt OECD (2001) bör kvalitetskontrollen omfatta fem replikat av varje lakning och kemisk analys av tre prover från varje replikat. Vidare bör blankprover ingå. Kostnaden för detta skulle bli för hög i föreliggande projekt, och istället utförs alla lakningar i tre replikat och ett lakvattenprov analyseras kemiskt per replikat. Blankprov (utan tillsats av fast material) görs för pH-stattesterna både vid L/S 10 och 1000.

2.7 Ekotoxicitetstester för utvärdering av antagonistiska och ekotoxiska effekter av makroelement

För att utvärdera effekten av askors innehåll av ämnen som vanligen inte klassas som toxiska och eventuella samverkans effekter i lakvattnen har projektet arbetat med såväl akuta som subkroniska tester med kräftdjuret *N. spinipes*, som har varit en central testorganism i tidigare studier (Avfall Sverige, 2008; 2009, Värmeforsk, 2009 samt Stiernström et al., 2011).

Då tidigare av projektgruppen genomförda studier (Avfall Sverige 2008, 2009 samt Värmeforsk, 2009) visat att det kan finnas samverkans effekter mellan vissa ämnen i asklakvatten har det akuta testet använts för att studera följande:

- Interaktion mellan K och Ca
- Interaktion mellan Cu och Ca
- Interaktion mellan Pb och Cu
- Interaktion mellan Pb och Cu och Ca

Samma studier har också indikerat att ämnen som normalt inte klassas som farliga (K, Ca och Al) kan svara för en stor del av de i de ekotoxikologiska testerna observerade toxiska effekterna av asklakvattnen (framförallt subkronisk i *N. spinipes*). Dessa indikationer har framförallt baserats på jämförelser mot toxicitetsindex baserade på uppmätta halter av oorganiska komponenter i lakvattnen och litteraturdata på akut toxicitet av dessa komponenter hos *N. spinipes*. För vissa asklakvatten har dock även halterna av vissa ämnen som klassificeras som farliga (t.ex. Pb, Cu och Zn) varit så pass höga att de kan förklara åtminstone delar av observerad toxicitet. För ta reda på vilka ämnen som *de facto* har stått för den observerade subkroniska toxiciteten hos *N. spinipes* i försök med asklakvatten, har vi i denna studie använt samma subkroniska test (s.k. LDR-test) för att studera enskild subkronisk toxicitet av K, Ca, Pb, Al, Cu och Zn.

2.7.1 Akuttoxicitetstest

Akuttoxicitetstesterna utfördes enligt Svensk Standard (SIS, 1991) och bestämmer vid vilken koncentration av lakvatten eller enskild substans som 50 % av försöksdjuren dör efter 96 timmars exponering. Resultatet anges som 96hr-LC₅₀ och uttrycks som procent av det koncentrerade lakvattnet eller halt av substans plus ett konfidensintervall (95 %), som beskriver konfidensgraden i bestämningen. I detta försök används fullvuxna individer av kräftdjuret *N. spinipes* som inte utfodras under testet. För mer specifik information om de ekotoxikologiska metoderna som använts i detta projekt hänvisas till Avfall Sverige (2009).

Akuttoxicitetstester genomfördes vid ITM med följande kombinationer av ämnen: a) K och Ca, b) Cu och Ca, c) Pb och Cu samt d) Pb, Cu och Ca (koncentrationen av Ca var konstant vid LC₁₀-nivå). Dessutom genomfördes tester med de enskilda ämnena.

K och Ca löstes i naturligt brackvatten (GF/C) medan metallerna löstes i MilliQ-vatten och doserades direkt i provrören till totalt 10 ml naturligt brackvatten (GF/C). Koncentrationerna var desamma oavsett om elementen var i blandning eller enskilt. I dessa akutförsök syntes utfällningar i försöken med Cu och Pb vid högre testade koncentrationer. I samtliga försök låg pH inom ramen för godkänt intervall, dvs. 6-9

2.7.2 Subkroniskt larvutvecklingstest (LDR- Larval Development Ratio)

Testerna utfördes enligt Breitholtz och Bengtsson (2001) med några undantag. Vid försöksstart fördelades nyfödda (inom 24h) djur slumpmässigt; cirka 10 djur per replikat och 8 replikat per behandling/spädning i scintburkar. Burkarna undersöktes och antalet nauplier/burk noterades. Vattenbyte (70 %) samt matning (*Rhodomonas salina* 50 µL av 5×10^7 celler/ml) utfördes varannan dag. Djurens status undersöktes dagligen och efter 6 eller 7 dagar hade 50 % av djuren i kontrollen genomgått metamorfos till ett copepoditstadium och försöket avbröts. Andelen nauplier som nått ett copepoditstadium i behandlingarna beräknades samt procenten döda i varje koncentration. Resultaten anges som ett NOEC värde (No Observed Effect Concentration). För mer detaljerad information om testet hänvisas till Värmeforsk (2009).

LDR-test utfördes vid ITM på följande individuella ämnen: K, Ca, Pb, Al, Cu och Zn.

För försöken med K gjordes en stamlösning (5250 mg K⁺/l) genom att lösa KCl i naturligt brackvatten (s.k. GF/C). För att bereda testlösningarna späddes i 50-100 ml mätkolvar stamlösningen med naturligt brackvatten. För att möjliggöra att testdjuren fördelades slumpmässigt och för att förhindra kontaminering av pipettspetsar gjordes dock för varje koncentration en testlösning som var dubbel så stark som den önskade. Vid försöksstart tillsattes 5 ml naturligt brackvatten till respektive testkärl och testdjuren fördelades slumpmässigt tills alla kärl innehöll ca 10 djur var. Därefter tillsattes 5 ml av respektive ”dubbla” testkoncentration, för att på så sätt uppnå önskad testkoncentration i varje behandling. Samma stamlösning användes genom hela försöket för att bereda testlösningar vid varje enskilt vattenbyte, då 7 ml av den gamla testlösningen försiktigt sögs bort genom att hålla pipettspetsen alldeles under ytan. Detta gjordes för att minimera risken för att få med organiskt material och testdjur. För varje testkärl markerades vid start volymen av testlösningen. I händelse av avdunstning korrigerades volymen innan vattenbyte genom att tillsätta Milli-Q vatten. Ingen pH eller salthaltsjustering gjordes innan försöksstart.

Försöken med Ca och Pb utfördes på samma sätt som för K enligt ovan baserat på kloridföreningar. Koncentrationen på stamlösningen för Ca var 2726 mg Ca⁺/l och för Pb 74,5 mg Pb²⁺/l.

För Al bereddades stamlösningen på teknisk Na-aluminat till 311,4 mg Al³⁺/L) vilket gav ett pH på >12. Anledningen var att efterlikna de basiska förhållanden som normalt råder i ett askklavatten. Försöken med Al utfördes i stort sätt som för de andra ämnena men med den skillnaden att stamlösningen pipetterades direkt till testkärnen efter det att naturligt brackvatten och djur tillsatts. Vid vattenbyte placerades stamlösningen i ultraljudsbad bad och respektive testlösning bereddades i nya kärl under omrörning. Från dessa kärl överfördes sedan 7 ml ny testlösning till testkärnen. För Al syntes utfällning i testlösningar där koncentrationen översteg 0,8 mg/l efter några dagar i kylskåp.

Försöken med Cu och Zn är redan publicerade i den vetenskapliga litteraturen och vi hänvisar således till Ytreberg et al. (2010) för mer detaljerad information.

I samtliga försök låg pH inom ramen för godkänt intervall, dvs. 6-9.

2.8 Kemiska analyser

Det studerade slaggruset hade sedan tidigare analyserats med avseende på totalhalt av grundämnen, totalt oxiderbart kol (TOC) och totalt oorganiskt kol (TIC) på ALS Scandinavia (Avfall Sverige, 2009). Totalhalterna analyserades då på partikelfraktioner <4 mm och <0,125 mm. Några ytterligare totalhaltsanalyser gjordes inte i föreliggande studie. Resultaten från totalhaltsanalyserna i Avfall Sverige (2009) visas emellertid i bilaga A.5.

Lakvattnen som producerades i detta projekt skickades för analys av grundämnen (modifierad EPA-metod 200.7 [ICP-AES] och 200.8 [ICP-SFMS]), anjoner (klorid, fluorid, sulfat), löst organiskt kol (DOC) och oorganiskt kol (TIC) till ALS Scandinavia.

Konduktivitet och pH mättes i lakvattnet efter avslutat lakttest med konduktivitetmätare (CDM 210, Radiometer, Brønshøj, Danmark) och med pH-meter (PHM 210, Radiometer, Brønshøj, Danmark).

2.9 Databehandling och statistiska beräkningar

I de fall som halten av något ämne varit under detektionsgränsen har den rapporterade detektionsgränsen använts i medelvärdes- och statistiska beräkningar. Presenterade medelvärden i avsnitt 3.1.1 t.o.m. 3.1.3 är därmed något överskattade för de ämnen där så varit fallet, men under de halter som kan förväntas ge toxisk effekt i lakvattnet eftersom detektionsgränsen är låg i förhållande till toxiska halter. Detektionsgränserna visas i tabellerna över kemiska analysresultat i bilaga A.

Skillnader i beräknat toxicitetsindex samt halt av Ca, K, Al, Cu, Pb, Zn, Cl, SO₄ och DOC i lakvattnen beroende av:

- val av partikelfraktion vid lakning (<4 mm, <1 mm respektive <0,125 mm)
- val av lakttest (skak- eller pH-stattest)
- val av pH (askans naturliga eller pH 7)
- val av L/S (10 eller 1000)

testades med t-tester (independent, by group, t-test) i Statistica 9.1. Ett stort antal t-tester gjordes i studien och för att underlätta läsbarheten av rapporten anges bara om resultatet från testerna var över eller under signifikansnivån 0,05. Antalet frihetsgrader (df) var 4 i samtliga t-tester.

I de subkroniska testerna med *N. spinipes* testades skillnader i dödlighet och LDR ("larvutveckling") mellan kontroll och specifika behandlingar av de olika elementen med ett tvåsidigt Pearson Chi-square test i SPSS 15.0. Fisher's Exact test användes initialt för att testa om replikat inom respektive behandling eller kontroll var statistiskt skilda från varandra. Samtliga data bedömdes som homogena och replikat inom respektive behandling och kontroll behandlades således som hela datamängder. Eftersom inom varje test samma kontroll användes för att testa skillnader minskades signifikansnivån från 0.05 till 0.01 genom en s.k. Bonferroni-korrektion (dvs. 0.05/antalet jämförelser mot samma kontroll).

3 Resultat och diskussion

I bilaga A visas tabeller över samtliga resultat från de kemiska analyserna av lakvattnen från det studerade slaggruset. I figurerna i avsnitt 3.1 t.o.m. 3.2 avses askans naturliga pH när det står pH 10. pH i lakvattnen varierade emellertid från 9,4-10,3 i de lakningar som skett vid askans naturliga pH (se bilaga A). Vidare avses partikelfraktion <0,125 mm när det står <0,1 mm (av utrymmesskäl) i figurerna.

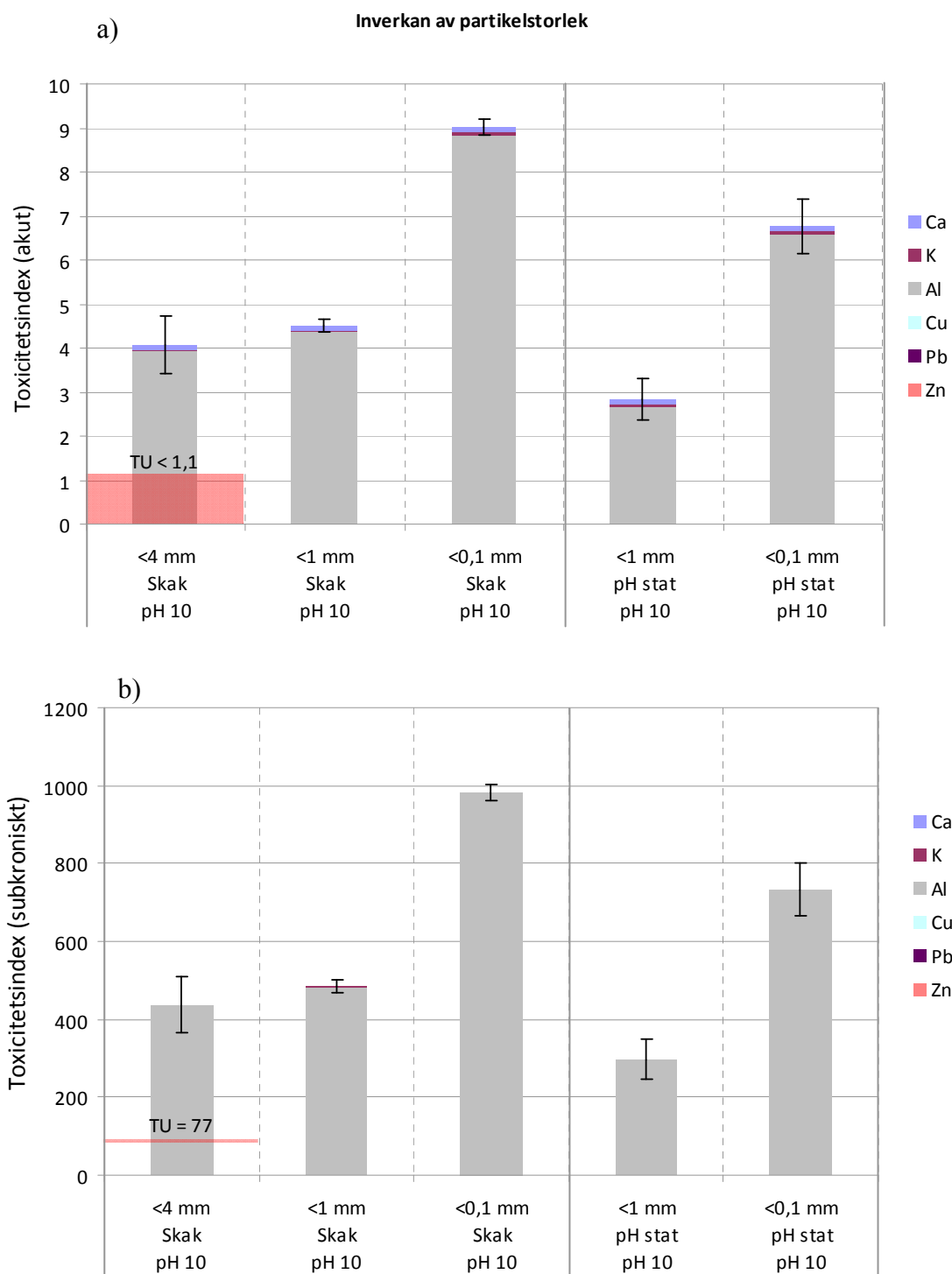
3.1 Inverkan av laktestförhållande på lakvattnets beräknade ekotoxicitet

Inverkan av de studerade lakparametrarna, partikelstorlek, pH och L/S, på lakvattnens sammansättning och toxicitet utvärderades genom beräkning av toxicitetsindex (TI) med avseende på akut och subkronisk toxicitet för *N. spinipes* för varje lakvatten. Beräkningar av TI gjordes för Ca, K, Al, Cu, Pb och Zn då dessa ämnen i tidigare studier bedömts vara mest kritiska för asklakvattnets toxicitet (Avfall Sverige, 2008; 2009; Värmeforsk, 2009 samt Stiernström et al., 2011). TI beräknades utifrån uppmätta halter i lakvattnen och i projektet framtagna data över de studerade ämnenas toxicitet för *N. spinipes*; LC₅₀-värden med avseende på akut toxicitet och NOEC-värden med avseende på subkronisk toxicitet. LC₅₀- och NOEC-värdena finns sammanställda i tabell i bilaga A.6. Om TI är >1 utgör detta en indikation på att lakvattnet kan uppvisa toxicitet. Jämförelser har sedan gjorts över hur de olika parametrarna, partikelstorlek, pH och L/S, påverkade beräknade TI. LC₅₀-värde för Al och Zn bestämdes inte i föreliggande studie. Ett litteraturvärde från en intern databas vid ITM på 10 mg/l respektive 1,5 mg/l användes därför i TI-beräkningarna för dessa ämnen. Vidare har inte NOEC för Ca bestämts med större noggrannhet än till >160 mg/l i föreliggande studie (se avsnitt 3.5). Värdet 160 mg/l användes i TI-beräkningarna för Ca även om det kan överskatta lakvattnets teoretiska toxicitet med avseende på Ca något.

På lakvatten från laktesterna från det undersökta slaggruset på partikelfraktion <4 mm, vid askans naturliga pH och L/S 10 respektive på partikelfraktion <0,125 mm, pH 7 och L/S 1000 har det i Avfall Sverige (2009) utförts ekotoxicitetstester med *N. spinipes*. Resultat från dessa tester användes för att få en indikation på hur väl beräknade TI från de olika laktesterna uppskattar lakvattnets toxicitet. För att underlätta jämförelsen mellan beräknat TI och toxicitet bestämt med ekotoxicitetstest är det lämpligt att resultaten från ekotoxicitetstesterna räknas om från utspädning till ett toxicitetsindex genom att beräkna inversen på utspädningen. Om LC₅₀ i toxicitetstestet bestäms till t.ex. 1 % inblandning av lakvatten i spädningsmediet beräknas toxicitetsindex till 100 (1/0,01), om LC₅₀ är 10 % inblandning av lakvatten beräknas toxicitetsindex till 10 (1/0,1) och om LC₅₀ bestäms till >100 % inblandning av lakvatten (ingen toxisk respons) beräknas toxicitetsindex till <1 (1/>1). Den gängse beteckningen på toxicitetsindex bestämt genom ekotoxicitetstester är ”toxic units”, TU. Denna beteckning (TU) används i föreliggande rapport.

3.1.1 Inverkan av partikelstorlek

I Figur 1 visas beräknat TI i lakvattnen med avseende på a) akut toxicitet och b) subkronisk toxicitet för *N. spinipes* beroende på val av partikelstorlek vid lakningen. Figuren visar endast de lakvatten där utlakning skett vid askans naturliga pH (cirka pH 10) och L/S 10. I figuren visas även uppmätt TU från Avfall Sverige (2009).



Figur 1. Beräknade toxicitetsindex (TI) med avseende på a) akut och b) subkronisk toxicitet för *N. spinipes* för lakningar utförda med olika partikelstorlekar i skak- och pH-stattester. L/S var 10 och pH askans naturliga (ca pH 10) i alla tester. Beräkningar av TI gjordes för Ca, K, Al, Cu, Pb och Zn. Staplarna visar medelvärden och felstaplarna standardavvikelsen ($n=3$) för totalt TI. I figuren visas även den toxiska responsen för *N. spinipes* (TU) som uppmättes i lakvatten från slaggruset i Avfall Sverige (2009).

Figure 1 Calculated toxicity index (TI) for a) acute and b) subchronic toxicity on N. spinipes for leachate from leaching tests performed with different particle size fractions in batch and pH-static tests. L/S was 10 and pH 10 (natural pH) in all tests. TI was calculated for Ca, K, Al, Cu, Pb and Zn. The bars show means and the error bars standard deviation (n=3) for total TI. The figure also shows the toxic response for N. spinipes (TU) determined on leachate from the bottom ash in Avfall Sverige (2009).

TI i lakvattnet med avseende på akut och subkronisk toxicitet för *N. spinipes* var störst då laktestet utfördes med den minsta partikelfractionen, <0,125 mm (se Figur 1), och statistiskt skild från TI vid både <4 och <1 mm ($p < 0,05$). I denna studie kunde emellertid ingen skillnad på TI i lakvattnen konstateras mellan lakningar vid <4 mm respektive <1 mm ($p > 0,05$). Vidare var TI i lakvattnet högre då lakning utfördes med skaktest än med pH-stattest ($p < 0,05$). Al dominerade helt den beräknade toxiciteten i lakvattnen, både akut och subkroniskt, då lakningen utfördes vid L/S 10 och askans naturliga pH (se Figur 1).

Beräknat TI jämfört med TU bestämt med toxicitetstest på lakvatten från skaktest vid L/S 10

På lakvattnen från skaktest vid askans naturliga pH och partikelfraktioner <4 mm utfördes det i Avfall Sverige (2009) toxicitetstester med bl.a. *N. spinipes*. Resultaten från den studien är markerade som TU i Figur 1. I akuttestet observerades ingen toxisk respons från lakvattnet (TU <1,1) medan beräkning av TI med avseende på akut toxicitet i detta projekt var $4,1 \pm 0,6$ (se Figur 1). Beräkning av TI utifrån uppmätta halter i lakvattnen och data över de studerade ämnenas toxicitet (i första hand Al) verkar alltså överskatta lakvattnets akuta toxicitet i detta fall (TI > TU). I det subkroniska testet observerades en hög toxisk respons från lakvattnet i Avfall Sverige (2009) (TU = 77) och beräkning av TI i föreliggande projekt indikerar också att lakvattnet var mycket toxiskt med avseende på subkronisk toxicitet för *N. spinipes* (TI 437 ± 72) (se Figur 1). Det enda ämne i lakvattnet som hade TI >1 med avseende på subkronisk toxicitet var Al och det verkar därmed även med avseende på kronisk toxicitet som beräkningar av TI för Al överskattas lakvattnets toxicitet. Fördjupade diskussioner kring toxiciteten för Al och dess påverkan på klassificering av askor återfinns i avsnitt 3.5 och bilaga C)

Sammanfattningsvis visar resultaten från laktesterna med olika partikelfraktioner att lakning av fraktioner <0,125 mm gav upphov till ett i teorin mer toxiskt lakvatten (högre TI) från det studerade slaggruset, och därmed en mer konservativ klassificering av materialet, än då lakning gjordes på fraktioner <4 eller <1 mm. Det kunde däremot inte fastställas någon skillnad i TI mellan lakvatten från fraktioner <4 och <1 mm. Vidare gav skaktesterna upphov till ett något mer toxiskt lakvatten (högre TI) än pH-stattesterna.

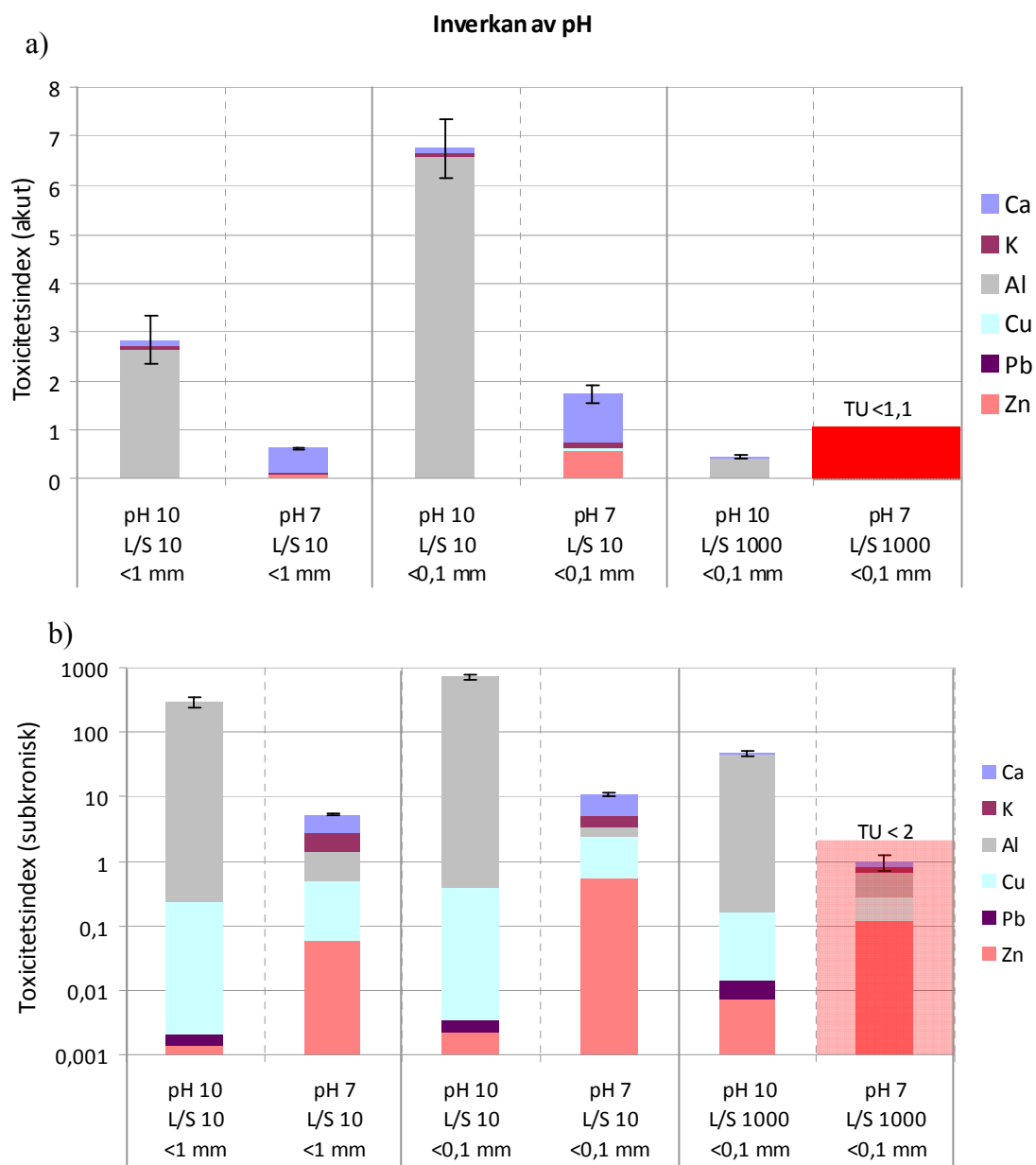
3.1.2 Inverkan av pH

I Figur 2 visas beräknad TI i lakvattnen med avseende på a) akut toxicitet och b) subkronisk toxicitet för *N. spinipes* beroende på val av pH vid lakningen. TI i Figur 2b visas med logaritmisk skala eftersom det var så stora skillnader i beräknad TI mellan de olika lakvattnen. Det är svårt att utläsa de enskilda ämnenas bidrag till toxiciteten utifrån en logaritmisk skala. Beräknad TI med avseende på subkronisk toxicitet för *N. spinipes* beroende på val av pH vid lakningen visas därför även i en tabell, 0.

Tabell 3. Beräknade toxicitetsindex (TI) med avseende på subkronisk toxicitet för *N. spinipes* för lakningar utförda med olika pH i pH-stattester. Beräkningar av TI gjordes för Ca, K, Al, Cu, Pb och Zn.

Table 3. Calculated toxicity index (TI) for subchronic toxicity on *N. spinipes* for leachate from leaching tests performed with different pH in pH-static tests. TI was calculated for Ca, K, Al, Cu, Pb and Zn.

pH	10	7	10	7	10	7
L/S	10	10	10	10	1000	1000
Partikelstorle k	<1 mm	<1 mm	<0,1 mm	<0,1 mm	<0,1 mm	<0,1 mm
TI Ca	0,5	2,6	0,5	5,5	0,1	0,2
TI K	1,4	1,3	1,3	1,9	0,2	0,2
TI Al	294,4	0,9	731,1	0,9	46,1	0,4
TI Cu	0,2	0,4	0,4	1,8	0,1	0,2
TI Pb	0,001	0,001	0,001	0,002	0,01	0,001
TI Zn	0,001	0,1	0,002	0,6	0,01	0,1
ΣTI	296,6	5,3	733,3	10,7	46,6	1,0



Figur 2. Beräknade toxicitetsindex (TI) med avseende på a) akut och b) subkronisk toxicitet för *N. spinipes* för lakningar utförda med olika pH i pH-stattester. Beräkningar av TI gjordes för Ca, K, Al, Cu, Pb och Zn. Staplarna visar medelvärden och felstaplarna standardavvikelsen ($n=3$) för totalt TI. I figuren visas även den toxiska responsen för *N. spinipes* (TU) som uppmättes i lakvatten från slaggruset i Avfall Sverige (2009).

Figure 2 Calculated toxicity index (TI) for a) acute and b) subchronic toxicity on *N. spinipes* for leachate from leaching tests performed with different pH in pH-static tests. TI was calculated for Ca, K, Al, Cu, Pb and Zn. The bars show means and the error bars standard deviation ($n=3$) for total TI. The figure also shows the toxic response for *N. spinipes* (TU) determined on leachate from the bottom ash in Avfall Sverige (2009).

TI i lakvattnet med avseende på akut och subkronisk toxicitet för *N. spinipes* var störst då lakttesterna utfördes vid askans naturliga pH (se Figur 2), och statistiskt skild från TI vid pH 7 ($p < 0,05$). Detta förklaras av att utlakningen av Al, som helt dominerade beräknat TI vid askans naturliga pH, minskade kraftigt vid pH 7. Vissa ämnen (Ca och Cu), som hade beräknat subkroniskt TI som var mindre än 1 vid lakning vid askans naturliga pH, förekom emellertid i förväntat toxiska halter ($TI > 1$) vid lakning vid pH 7 (se Tabell 3).

I allmänhet var Al, Ca och Zn de ämnen som påverkades mest av förändrat pH i lakttesterna. Utlakningen av Ca och Zn ökade kraftigt då lakning utfördes vid pH 7 istället för vid askans naturliga pH ($p < 0,05$) medan utlakningen av Al, som nämnts ovan, minskade kraftigt ($p < 0,05$). En utförligare beskrivning av inverkan av pH vid lakning på halten i lakvattnet av enskilda ämnen finns i bilaga B.

Beräknat TI jämfört med TU bestämt med toxicitetstest på lakvatten från pH ståttest vid L/S 10000

På lakvattnen från pH ståttest vid pH 7 och L/S 1000 utfördes det i Avfall Sverige (2009) ekotoxicitetstester med bl.a. *N. spinipes*. Resultaten från den studien är markerade som TU i Figur 2. Någon toxisk respons observerades varken i akuttestet eller i det subkroniska testet ($TU < 1,1$ respektive < 2) (se Figur 2). Beräkningen av TI i föreliggande projekt indikerar att lakvattnet inte heller borde ge upphov till någon toxisk respons på *N. spinipes* ($TI_{\text{akut}} 0,2 \pm 0,03$ och $TI_{\text{subkronisk}} 1,0 \pm 0,3$). Det finns alltså en viss överensstämmelse mellan beräknad TI och TU bestämd med toxicitetstest. Det är emellertid svårt att säga hur god denna överensstämmelse är när någon toxisk respons inte observerats.

Sammanfattningsvis visar resultaten från lakttesterna med olika pH att lakning vid pH 7 gav upphov till ett i teorin betydligt mindre toxiskt lakvatten (lägre TI) från det studerade slaggruset, och därmed en mindre konservativ klassificering av materialet, än då lakning gjordes vid askans naturliga pH. Detta beror till övervägande del på att det lakade ut betydligt mycket mindre Al vid pH 7 än vid pH 10 (askans naturliga).

3.1.3 Inverkan av L/S

Inverkan av val av L/S vid lakning på beräknat TI i lakvattnen med avseende på a) akut toxicitet och b) subkronisk toxicitet för *N. spinipes* framgår av Figur 2. Med ökat L/S från 10 till 1000 minskade TI_{akut} från $6,8 \pm 0,6$ till $0,5 \pm 0,03$ vid lakning vid pH 10 och från $1,7 \pm 0,2$ till $0,2 \pm 0,03$ vid lakning vid pH 7. $TI_{\text{subkronisk}}$ minskade från 733 ± 67 till 47 ± 3 vid lakning vid pH 10 och från $10,7 \pm 0,5$ till $1,0 \pm 0,3$ vid lakning vid pH 7 (se Figur 2). Minskningen i TI med ökat L/S var statistiskt signifikant ($p < 0,05$). Vid askans naturliga pH berodde minskningen i TI med ökat L/S framförallt på att halten Al i lakvattnet minskade. Vid pH 7 berodde minskningen i TI framförallt på att halten Ca och Zn minskade med ökat L/S (se Figur 2).

Sammanfattningsvis visar resultaten från lakttesterna med olika L/S att lakning vid L/S 1000 gav upphov till ett i teorin mindre toxiskt lakvatten (lägre TI) från det studerade slaggruset, och därmed en mindre konservativ klassificering av materialet, än då lakning gjordes vid L/S 10. Detta berodde till övervägande del på att halten Al som helt

dominerar toxiciteten i lakvattnet var lägre vid L/S 1000 än vid L/S 10 vid lakning vid askans naturliga pH. Vid pH 7 berodde minskningen i TI med ökat L/S på att ämnena generellt var lägre vid L/S 1000 än vid L/S 10. Om allt tillgängligt Ca, K, Al, Cu, Pb och Zn hade lakats ut redan vid L/S 10 hade man kunnat förvänta sig att TI i lakvattnet skulle vara en faktor 100 lägre vid lakning vid L/S 1000 (p.g.a. utspädning). TI var emellertid mindre än en faktor 100 lägre i lakvattnen som lakats vid L/S 1000 vilket indikerar att det finns en stor tillgänglig mängd av ett flertal av de studerade ämnena i slaggruset och att utlakningen fortsätter efter L/S 10. Ökning av L/S vid lakning med två tiopotenser minskade endast TI i lakvattnet med cirka en tiopotens (se Figur 2 och Tabell 3).

3.2 Inverkan av laktestförhållande på lakvattnets kemiska sammansättning

I bilaga B visas en mer detaljerad beskrivning av hur olika laktestförhållanden påverkar lakvattnets kemiska sammansättning av Ca, K, Al, Cu, Pb och Zn som förväntas ha störst inverkan på lakvattnets toxicitet för *Nitocra spinipes*. Där redovisas även inverkan av laktestförhållande på utlakning av Cl, SO₄ och DOC.

3.2.1 Inverkan av partikelstorlek och testmetod

De ämnen som påverkades mest av förändrad partikelstorlek i laktesterna vid askans naturliga pH var Al och Cu (se Figur 1 i bilaga B.1). För dessa ämnen var halterna i lakvattnen unger dubbelt så höga då lakning utfördes med nedkrossning <0,125 mm än med nedkrossning <4 respektive <1 mm, både i skak- och pH-stattesterna (p<0,05). Även DOC uppvisar samma förhöjning vilket kan vara en bidragande orsak till ökad Cu-lakning eftersom Cu är starkt associerat till DOC i lakvatten från slaggrus. När lakning av askan genomfördes pH-statiskt vid pH 7 erhöles en ännu större påverkan på utlakning som funktion av partikelstorlek. För ämnena Ca och Pb gav nedkrossning <0,125 ungefär 2 gånger större utlakning, för Cu ca 4 ggr större och för Zn ca 8 ggr större jämfört med nedkrossning till <1 mm.

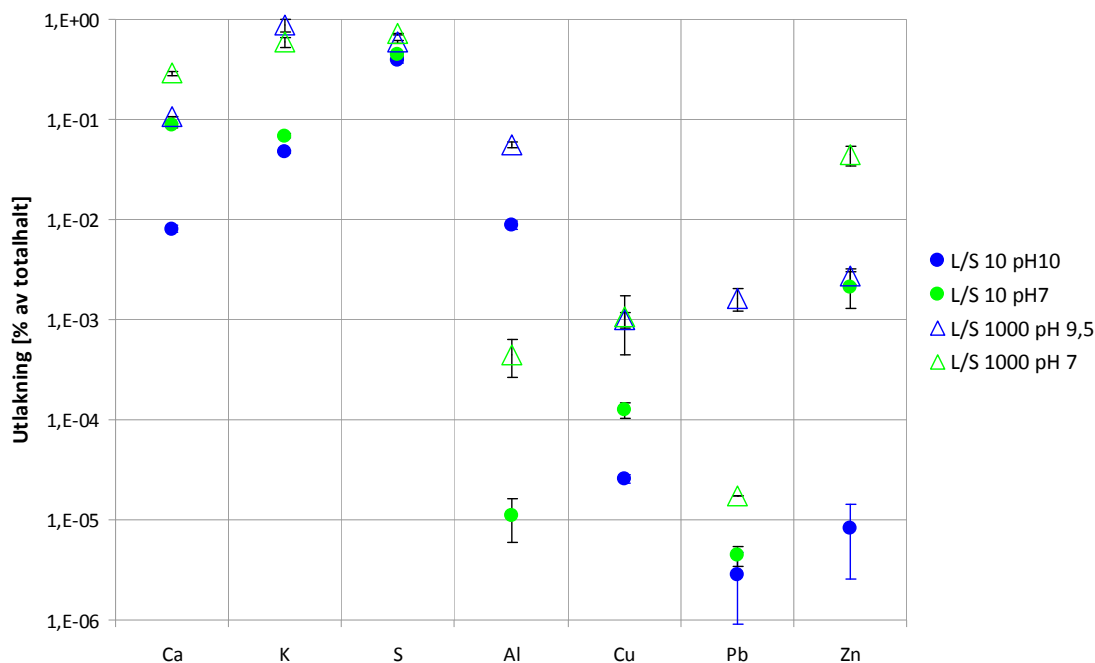
Partikelstorleken har betydelse främst genom att kinetiska utlakningsbegränsningar generellt minskar med minskande partikelstorlek. Även ämnets fördelning i partiklarna kan ha betydelse. Mer lösliga former av generellt svårlösliga ämnen kan vara inneslutna i partiklarna och vid krossning eller malning ökar då den lakbara halten.

Skaktest vid askans eget pH gav halter som för Ca, Al och Cu var något högre än motsvarande pH-stat test. Skillnaden var dock begränsad och som mest för Al ca 50 % högre. Förklaringen kan vara att det uppstår en kraftigare nötning av partiklarna i ett skaktest.

3.2.2 Inverkan av pH och L/S vid lakning på mängder och halter i lakvattnet

I Figur 3 ges en översiktlig beskrivning av hur stor andel av den totala halten i slaggruset som lakats ut beroende på L/S och pH. Ett stort spann mellan den högsta och

lågsta uppmätta lakbara andelen i Figur 3 indikerar att ämnet i fråga påverkas kraftigt av förändringar i L/S och pH vid lakning. En ökning av den utlakade mängden med två tiopotenser (två skalstreck i figur 3) från L/S 10 till L/S 1000 medför att koncentrationen i lakvätskan är konstant.



Figur 3. Utlakad andel av den totala halten av Ca, Al, Cu, Pb, Zn, S för lakningar utförda med olika pH och L/S i pH-stattester på slaggrus nedkrossat till 0,125 mm. Punkterna visar medelvärden och felstaplarna standardavvikelser (n=3)

Figure 3. Leached fraction of the total content of Ca, K, Al, Cu, Pb, Zn,, S in leaching tests performed with different pH and L/S in pH-static tests on waste incineration bottom ash crushed to < 0,125 mm. The dots show means and the error bars standard deviations (n = 3).

Det framgår tydligt av Figur 3 att pH och L/S-tal har stor inverkan på den lakbara mängden av svårslösliga Al, Pb och Zn om förhållanden ändras från de som föreskrivs i standarden för SS-EN 14735:2005 *Preparering av avfallsprover för ekotoxikologisk testning* där lakning skall ske vid provets eget pH och L/S 10. För Al ger en förändring av pH att utlakningen minskar kraftigt medan en ökning av L/S att den utlakade mängden ökar. Ökningen är dock mindre än 2 tiopotenser och koncentrationen minskar med ökat L/S. För Zn ökar den utlakade mängden kraftigt vid förändring av både pH och L/S. Koncentration vid provets eget pH är till och med högre vid L/S 1000 än L/S 10 vilket sannolikt förklaras av att pH samtidigt sjunkit något från ca 10 till ca 9,5. För Pb är andelen utlakad av totalhalten generellt mycket låg och en stor del av mätvärdena var under detektionsgränsen. På samma sätt som för Zn gäller dock att koncentration vid provets eget pH till och med är högre vid L/ 1000 än L/S 10.

Även Cu är ett svårlösligt ämne där andelen utlakat av totalhalten generellt är mycket låg men variationen i mängden utlakat är relativt begränsad trots stora förändringar av pH och L/S tal. De är främst förändringar i L/S som ökar den utlakade mängden. Ökningen är dock mindre än 2 tiopotenser och koncentrationen minskar med ökat L/S

För Ca, K och S som är relativt lösliga är effekterna på utlakad mängd som funktion av ändringar i L/S och pH därmed relativt begränsade. En ökning av L/S ger därmed tydlig sänkta koncentrationer i lakvätskan. Kontaminering är en osäkerhetskälla för K-halter i pH-stattester (se 0, avsnitt 3.3) och kan vara en förklaring till skillnader i K-halt mellan L/S 10 och L/S 1000

För Ca, K och S som är relativt lösliga är effekterna på utlakad mängd relativt begränsade som funktion av ändringar i L/S och pH. En ökning av L/S ger därmed tydlig sänkta koncentrationer i lakvätskan. För Ca finns ett pH-beroende eftersom Ca fälls ut som CaCO_3 vid höga pH. Kontaminering är en osäkerhetskälla för K-halter i pH-stattester (se 0, avsnitt 3.3) och kan vara en förklaring till skillnader K-halt mellan L/S 10 och L/S 1000

De finns fler olika processer som förklarar de observerade skillnaderna. Några av de viktigare är:

- 1) En av de viktigaste faktorerna som styr löslighet är pH. pH har stor betydelse för bildningar av lösliga komplex eller utfällda mineraler. För lösliga ämnen som Cl eller K har dock pH liten inverkan på lösligheten.
- 2) Lakttesterna har genomförts som korttidstester (24 h). Det kan finnas kinetiska begränsningar i utlakningshastighet som kontrollerar den utlakade halten. Förändringar i pH påverkar även utlakningshastigheten
- 3) Ämnen förekommer ofta bundna i flera olika former som är mer eller mindre lösliga. Förändringar i pH och L/S gör att även mer svårlösliga former lakas ut.

3.3 Kvalitetskontroll vid lakning

I 0 visas resultaten från blankproverna från pH-stattesterna. I blanktesterna utfördes lakning enbart med lakvätska utan tillsats av fast material eller syra. Testerna benämns L/S 10 respektive L/S 1000 i tabellen för att indikera vilket pH-stattest som efterliknats.

Tabell 4. Uppmätta halter i lakvatten från blanktester från pH-stattesterna.

Table 4. Measured concentrations in leachate from blank tests from the pH-static tests.

		L/S 10	L/S 1000
Ca	mg/l	<0,2	<0,2
Fe	mg/l	0,0046	0,0072
K	mg/l	45,2	6,4
Mg	mg/l	<0,09	<0,09
Na	mg/l	<0,1	<0,1
S	mg/l	<0,2	<0,2
Al	µg/l	3,82	9,09
As	µg/l	<1	<1
Ba	µg/l	1,22	1,28
Cd	µg/l	<0,05	<0,05
Co	µg/l	<0,05	0,0961
Cr	µg/l	3,44	3,04
Cu	µg/l	<1	<1
Hg	µg/l	<0,02	0,0496
Mn	µg/l	2,41	1,29
Ni	µg/l	<0,5	1,13
Pb	µg/l	<0,2	<0,2
Zn	µg/l	2,12	<2
TIC	mg/l	<0,50	<0,50
DOC	mg/l	15,5	2,49
Cl	mg/l	43,1	5,6
F	mg/l	<0,200	<0,200
SO4	mg/l	<5,00	<5,00

Halten DOC var anmärkningsvärt höga i blanktesterna, framförallt vid L/S 10. Både DOC- och K-halten var i samma storleksordning som halterna i laktesterna med slaggruset. Även Cl-halterna är förhöjda. En möjlig förklaring till detta är att pH-elektroden, som hela tiden är i kontakt med lakvattnet vid lakning med pH-stattest och är fylld med en KCL-lösning, läcker K, Cl och DOC. I övrigt var halterna i blankproverna långt under de halter som kan förväntas ge respons i biotetster för *N. spinipes* eller påverka utlakningsförlopp och biotillgänglighet.

Repetierbarheten (här mätt som standardavvikelsen på uppmätta halter i lakvattnen) för de olika lakningsförfarandena visas i Tabell 5. Mätosäkerheten är i regel större, och repetierbarheten sämre, då ämnen förekommer i mycket låga koncentrationer. I lakvattnet från slaggruset som studerades i detta projekt var halten av bl.a. Fe, As, Cd, Hg och F mycket låga och under detektionsgränsen i flertalet lakvatten. Dessa ämnen visas inte i Tabell 5. För uppmätta halter i lakvattnen hänvisas till bilaga A.

Det finns ett antal osäkerhetsfaktorer som påverkar den uppmätta halten i ett lakvatten; materialets heterogenitet, provberedning, lakningsutförandet, lakvattenhanteringen, provupparbetningen, den kemiska analysen etc. En viss variation i halt i lakvattnen mellan replikaten är oundviklig. I denna studie anses en standardavvikelse mellan replikaten på ungefär <50 % vara ett mått på acceptabel repetierbarhet och en standardavvikelse <30 % ett mått på mycket god repetierbarhet.

Tabell 5. Repeterbarheten, mätt som standardavvikelsen på uppmätta halter i lakvattnen (n=3), för de olika laktesterna som använts i projektet. Understrukna värden avser värden där halten i något eller några av replikaten understigit detektionsgränsen. Detektionsgränsen har använts i beräkningen av standardavvikelsen i dessa fall.

Table 5. The repeatability, measured as the standard deviation of measured concentrations in the leachates (n=3), for the different leaching tests used in the project. Underlined values are values in which the concentration in one or two of the replicates was lower than the detection limit. The detection limit was used in the calculation of standard deviation in these cases.

Lakmetod	skak	Skak	skak	pH-stat	pH-stat	pH-stat	pH-stat	pH-stat	pH-stat
Partikelstr	<4 mm	<1 mm	<0,1 mm	<1 mm	<0,1 mm	<1 mm	<0,1 mm	<0,1 mm	<0,1 mm
pH	egen pH	egen pH	egen pH	egen pH	egen pH	pH 7	pH 7	egen pH	pH 7
L/S	10	10	10	10	10	10	10	1000	1000
Ca	6%	1%	1%	7%	8%	5%	6%	1%	4%
K	8%	1%	3%	17%	4%	4%	5%	14%	11%
Mg	13%	5%	-	31%	10%	17%	4%	6%	1%
Na	8%	1%	2%	1%	4%	2%	3%	2%	5%
S	4%	2%	0%	1%	6%	1%	4%	3%	1%
Al	17%	3%	2%	17%	9%	14%	46%	7%	40%
Ba	4%	2%	2%	10%	6%	9%	5%	7%	11%
Co	<u>20%</u>	-	-	<u>25%</u>	-	12%	17%	<u>40%</u>	27%
Cr	63%	11%	26%	44%	<u>34%</u>	74%	87%	25%	27%
Cu	8%	7%	1%	10%	10%	6%	19%	19%	59%
Mn	-	17%	25%	41%	68%	18%	24%	26%	13%
Pb	<u>57%</u>	4%	-	-	<u>68%</u>	11%	22%	25%	-
Zn	3%	<u>6%</u>	<u>35%</u>	-	<u>69%</u>	17%	39%	18%	23%
TIC	52%	4%	2%	11%	13%	7%	29%	4%	60%
DOC	28%	13%	15%	47%	26%	20%	75%	20%	54%
Cl	5%	1%	5%	20%	10%	4%	5%	34%	8%
SO4	8%	0%	6%	2%	11%	1%	11%	2%	7%

Skaktesterna gav resultat med mycket god repeterbarhet (låg standardavvikelse). Repeterbarheten var bättre då mindre partikelfraktionerna lakades (<1 och <0,125 mm). Två av skaktesterna på fraktioner <4 mm utfördes emellertid i Avfall Sverige (2009) och det tredje i detta projekt. Mellan dessa lakningar var det ett par månader vilket kan ha påverkat materialets lakegenskaper eller något i de laborativa betingelserna vid lakning. Den sämre repeterbarheten vid <4 mm jämfört med <1 respektive <0,125 mm behöver därför inte enbart bero på partikelstorleken.

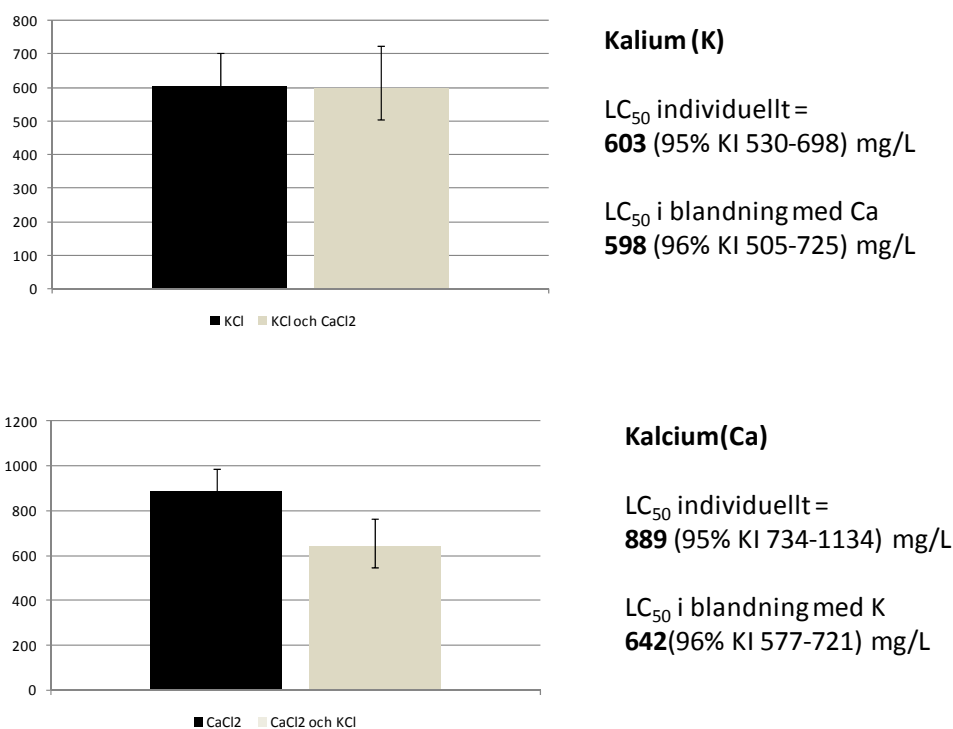
Repeterbarheten för pH-statisterna var något sämre än för skaktesterna, men ändå mycket god för de flesta ämnen. Variationen mellan replikaten för bl.a. Cr, Cu, Pb, Zn och DOC var något hög i vissa pH-statister. För Pb och Zn kan detta bero på att halterna var låga och nära detektionsgränsen för analysen (se bilaga A.2) och för DOC på kontaminering (se 0). Lakning vid L/S 1000 och askans naturliga pH gav resultat med minst lika god repeterbarhet som lakning vid L/S 10 (vilket är standard för pH-statist SS-CEN/TS 14997). Användning av L/S 1000 vid faroklassificering av askor kan alltså ge resultat av acceptabel kvalitet. Detta bör emellertid bekräftas med studier på fler askor med olika egenskaper. Liksom för skaktesterna vid <4 mm utfördes två av replikaten av pH-statisterna vid L/S 1000 och pH 7 i Avfall Sverige (2009) och det tredje replikatet i denna studie. Detta kan ha påverkat variationen mellan replikaten och

försvarar möjligheten att dra slutsatser om testets repeterbarhet. För de flesta analyserade ämnena var emellertid repeterbarheten god vid lakning vid L/S 1000 och pH 7 samt likvärdig med resultaten för motsvarande pH 10 och skakförsök < 4mm se Tabell 5).

Sammanfattningsvis tycks inte en minskad partikelstorlek genom krossning och malning till < 0,125 ge en entydig generell förbättring av precisionen för lakteter på slaggruset.

3.4 Antagonistiska och ekotoxiska effekter av makroelement

I Figur 4 (övre delen) redovisas 96hr-LC₅₀ hos *N. spinipes* exponerad för K (KCl) enskilt och K i blandning med Ca (CaCl₂) samt (nedre delen) Ca enskilt och Ca i blandning med K. De högra staplarna i såväl den övre som nedre delen av figuren baseras utifrån data från samma försök, där toxiciteten är baserad utifrån antingen K (övre) eller Ca (nedre) som ”styrande”.



Figur 4. Akut toxicitet hos kräftdjuret *N. spinipes* efter 96 timmars exponering utan vattenbyte. **Övre figur:** visar LC₅₀-värde för kalium enskilt (svart stapel) och i närvaro av kalcium (grå stapel). **Nedre figur:** visar LC₅₀-värde för kalcium enskilt (svart stapel) och i närvaro av kalium (grå stapel). Observera att endast ett blandningsförsök har utförts och att skillnaden mellan de grå staplarna i den övre och den nedre figuren beror på vilket ämne som har använts för beräkning av effektkoncentration. Staplarna anger medeleffektkoncentration och felstaplarna 95% konfidensintervall.

Figure 4. Acute toxicity in *N. spinipes* after 96 hours static exposure. **Above:** LC₅₀-value for K alone (black bar) and in mixture with Ca (gray bar). **Below:** LC₅₀-value for Ca alone (black bar) and in mixture with K (gray bar). Note that these results are based on the same mixture toxicity test and that the difference between the gray

bars above and below are dependent on which element that has been used for calculating the effect concentration. In general, the bars show the mean effect concentration and the error bars denote the 95% confidence interval of the mean.

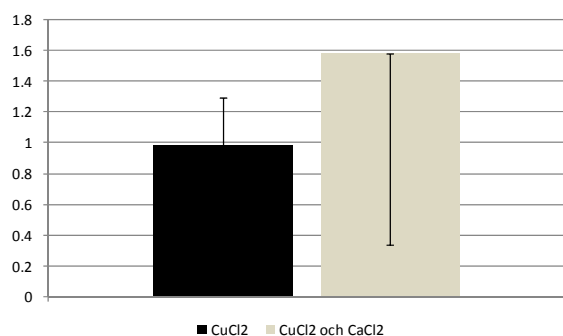
Figuren visar att den akuta toxiciteten för K inte skiljer sig åt om Ca är närvarande eller inte, samtidigt som "toxiciteten" för Ca i blandning med K är högre (lägre LC_{50}) än för Ca enskilt. Förklaringen till detta tolkar vi som att K styr toxiciteten över Ca. För att förtydliga detta redovisas i Tabell 6 en sammanställning över de koncentrationer som användes i blandningsförsöket med Ca och K, samt observerad dödlighet/överlevnad i varje behandling. Här blir det tydligt att den koncentration av K där en nästan 50 % (48 %) dödlighet observerades, ligger väldigt nära den enskilda toxiciteten för K. För Ca å andra sidan "ökar toxiciteten" i närvaro av K, men detta är alltså troligtvis p.g.a. av att K styr toxiciteten över Ca. Detta indikerar sammanfattningsvis att K och Ca är antagonister men att det är K som styr den toxiska responsen

Tabell 6. Testkoncentrationer samt antalet levande/döda och procentuell dödlighet per testkoncentration i blandningsförsök med kalium och kalcium. Ramen visar det intervall där 50% av testdjuren dog av blandningen.

Table 6. Test concentrations as well as number of living/dead test animals and percentage mortality per test concentration for mixture toxicity test with K and Ca. The frame denotes the interval in which 50% of the animals died of the mixture treatment.

Behandling	Ca (mg/l)	K (mg/l)	Döda (n)	Levande (n)	Respons (%)
Kontroll	0	0	0	30	0%
Mix. 1	272	131	1	19	5%
Mix. 2	409	262	0	20	0%
Mix. 3	LC_{50ind} 613	524	LC_{50ind} 10	11	48%
Mix. 4	→ 920	1048	19	1	95%
Mix. 5	1380	2096	17	0	100%

I Figur 5 redovisas 96hr- LC_{50} hos *N. spinipes* exponerad för Cu ($CuCl_2$) enskilt eller i blandning med Ca ($CaCl_2$). Även om resultaten indikerar att toxiciteten av Cu minskar i närvaro av Ca, observerades ingen signifikant skillnad i LC_{50} mellan de två försöken beroende på att pridningen (95 % konfidensintervall) för blandningsförsöket är stort, vilket försvårar tolkningen av data.



Koppar (Cu)

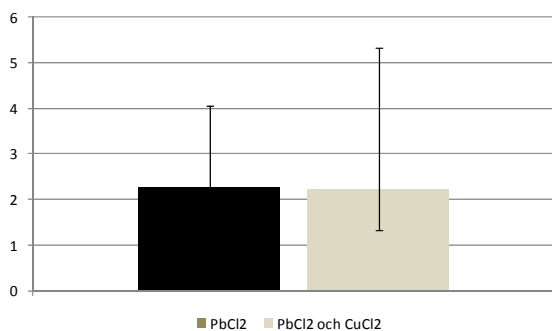
LC₅₀ individuellt =
0,98 (95% KI 0,75-1,29) mg/L

LC₅₀ i blandning med Ca
1,58 (96% KI 0,34-...) mg/L

Figur 5. Akut toxicitet hos kräftdjuret *N. spinipes* efter 96 timmars exponering utan vattenbyte. Svart stapel anger medeleffektkoncentration (LC₅₀) för koppar enskilt medan grå stapel anger LC₅₀ för koppar i blandning med kalcium. Felstaplar anger 95% konfidensintervall. Observera att ingen tillförlitligt övre konfidensnivå kunde beräknas för koppar i blandning med kalcium.

Figure 5. Acute toxicity in *N. spinipes* after 96 hours static exposure. Black bar denotes mean effect concentration (LC₅₀) for Cu alone whereas gray bar denotes Cu in mixture with Ca. Error bars denotes 95% confidence values of means. Note that for the mixture toxicity test no upper confidence limit could be established.

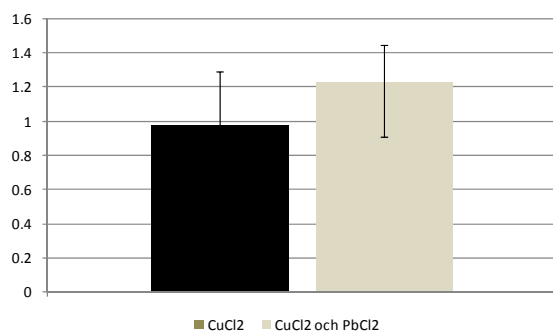
I Figur 6 (övre delen) redovisas 96hr-LC₅₀ hos *N. spinipes* exponerad för Pb (PbCl₂) enskilt och Pb i blandning med Cu (CuCl₂) samt (nedre delen) Cu enskilt och Cu i blandning med Pb. De högra staplarna i såväl den övre som nedre delen av figuren baseras utifrån data från samma försök, där toxiciteten är baserad utifrån antingen Pb (övre) eller Cu (nedre) som ”styrande”. Figuren visar att den akuta toxiciteten för Pb inte skiljer sig åt om Cu är närvarande eller inte. Inte heller för Cu verkar närvaron av Pb ha någon större betydelse för toxiciteten.



Bly (Pb)

LC₅₀ individuellt =
2.27(95% KI 1.63-4.07) mg/L

LC₅₀ i blandning med Cu
2.24 (95% KI 1.33-5.32) mg/L



Koppar (Cu)

LC₅₀ individuellt =
0.98 (95% KI 0.75-1.29) mg/L

LC₅₀ i blandning med Pb
1.23 (95% KI 1.01-1.55) mg/L

Figur 6. Akut toxicitet hos kräftdjuret *N. spinipes* efter 96 timmars exponering utan vattenbyte. **Övre figur:** visar LC_{50} -värde för bly enskilt (svart stapel) och i närvaro av koppar (grå stapel). **Nedre figur:** visar LC_{50} -värde för koppar enskilt (svart stapel) och i närvaro av bly (grå stapel). Observera att endast ett blandningsförsök har utförts och att skillnaden mellan de grå staplarna i den övre och den nedre figuren beror på vilket ämne som har använts för beräkning av effektkoncentration. Staplarna anger medeleffektkoncentration och felstaplarna 95% konfidensintervall.

Figure 6. Acute toxicity in *N. spinipes* after 96 hours static exposure. **Above:** LC_{50} -value for Pb alone (black bar) and in mixture with Cu (gray bar). **Below:** LC_{50} -value for Cu alone (black bar) and in mixture with Pb (gray bar). Note that these results are based on the same mixture toxicity test and that the difference between the gray bars above and below are dependent on which element that has been used for calculating the effect concentration. In general, the bars show the mean effect concentration and the error bars denote the 95% confidence interval of the mean.

Precis som visades för Ca och K åskådliggör Tabell 7 samma sak men på ett alternativt sätt. Eftersom tabellen visar att endast cirka 20 % av djuren dog vid koncentrationer av såväl Cu som Pb som enskilt gav cirka 50 % dödlighet, kan det ha förekommit matriseffekter i blandningen, som minskade tillgängligheten av båda ämnena.

Tabell 7. Testkoncentrationer samt antalet levande/döda och procentuell dödlighet per testkoncentration i blandningsförsök med koppar och bly. Ramen visar det intervall där 50% av testdjuren dog av blandningen

Table 7. Test concentrations as well as number of living/dead test animals and percentage mortality per test concentration for mixture toxicity test with Cu and Pb. The frame denotes the interval in which 50% of the animals died of the mixture treatment.

Behandling	Cu (mg/l)	Pb (mg/l)	Döda (n)	Levande (n)	Respons (%)
Kontroll	0	0	0	30	0%
Mix. 1	0,2	0,2	0	20	0%
Mix. 2	0,4	0,6	5	15	25%
Mix. 3	LC_{50ind} → 0,8	1,81 ← LC_{50ind}	4	15	21%
Mix. 4	1,6	2,72	14	6	70%
Mix. 5	3,2	5,43	18	0	100%

Även försöket med en blandning av Pb och Cu i närvaro av Ca vid en nivå som motsvarade LC10 (redovisas ej) gav samma bild. Trots att dessa resultat indikerar att Pb och Cu är antagonister behövs det fler försök för att fastställa bakomliggande orsaker till blandningens toxicitet och tänkbara interaktioner mellan Pb och Cu.

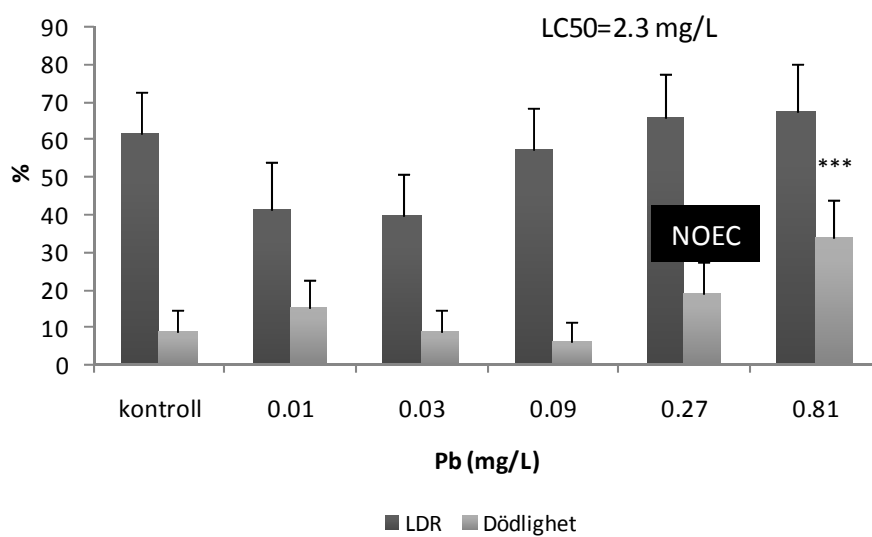
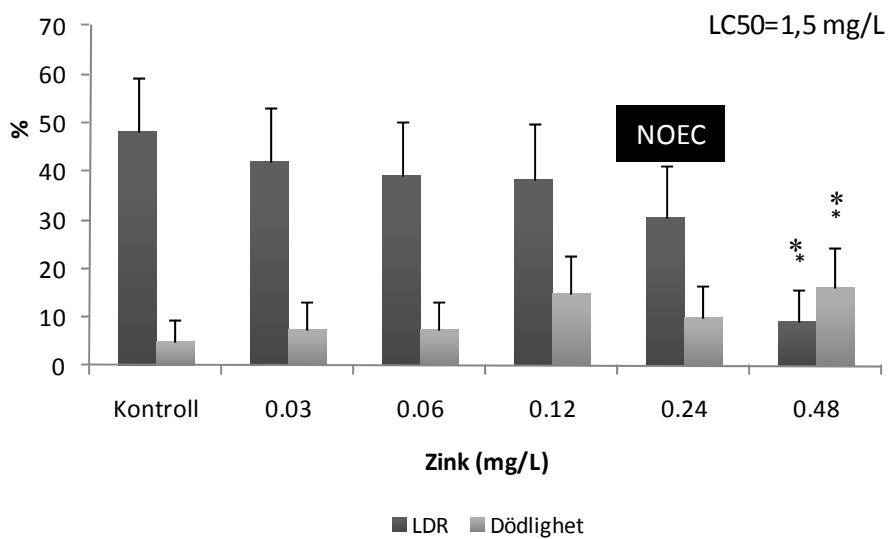
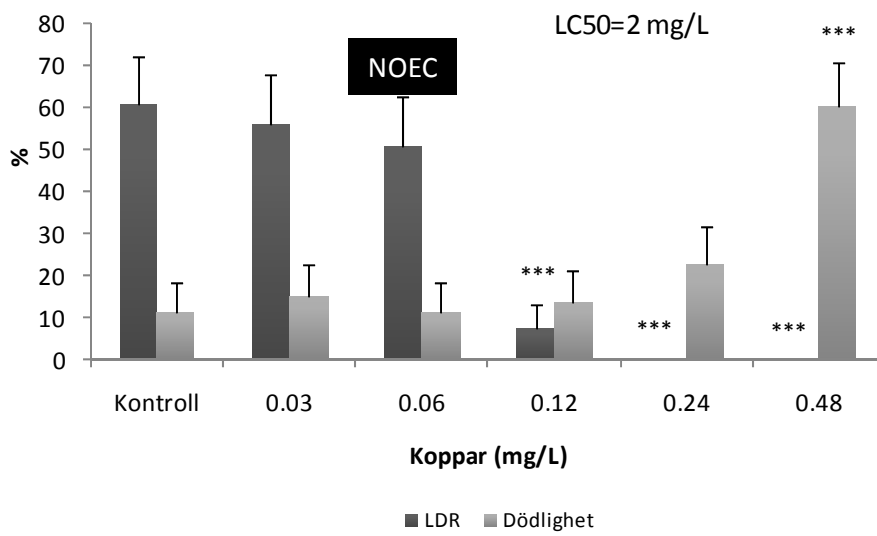
Sammanfattningsvis visar dessa akutförsök med *N. spinipes* att vissa ämnen verkar kunna interagera, vilket givetvis också kan ha varit fallet i de av projektgruppen tidigare testade asklakvattnen. Förutom interaktionen mellan K och Ca, där K tydligt styr toxiciteten av de två, är dock inte interaktionerna av den grad att de kan ha medfört något betydande problem för tolkningen av de toxicitetsdata som genererats vid testningen med olika komplexa asklakvattnen i tidigare studier (Avfall Sverige, 2008; 2009 samt Värmeforsk, 2009). Det är dock viktigt att poängtera att det krävs ett större

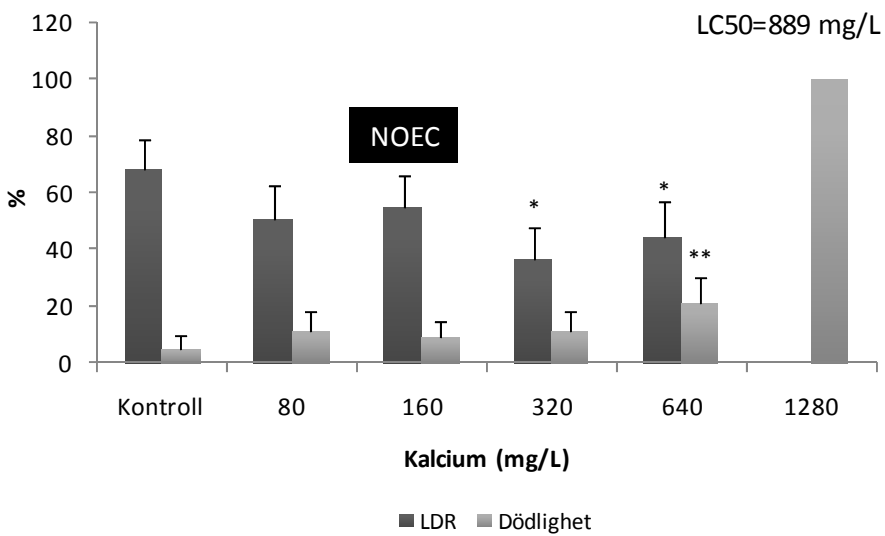
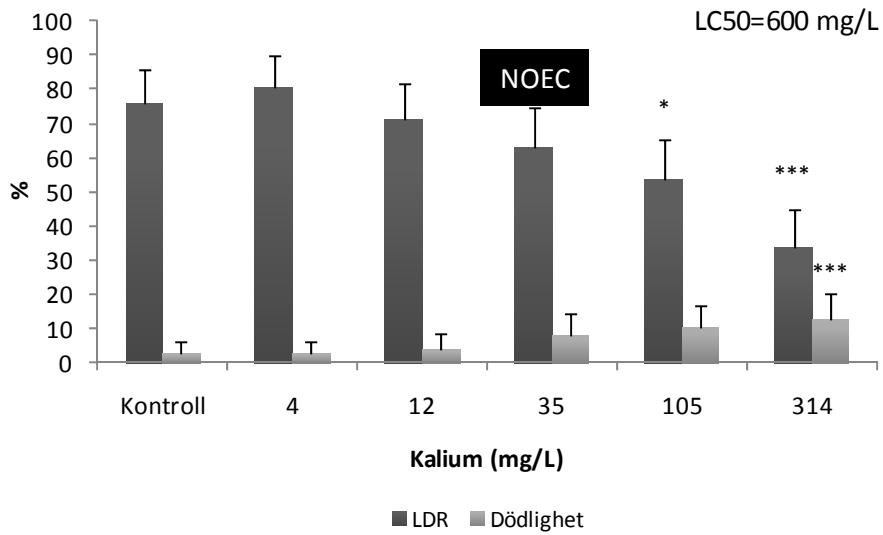
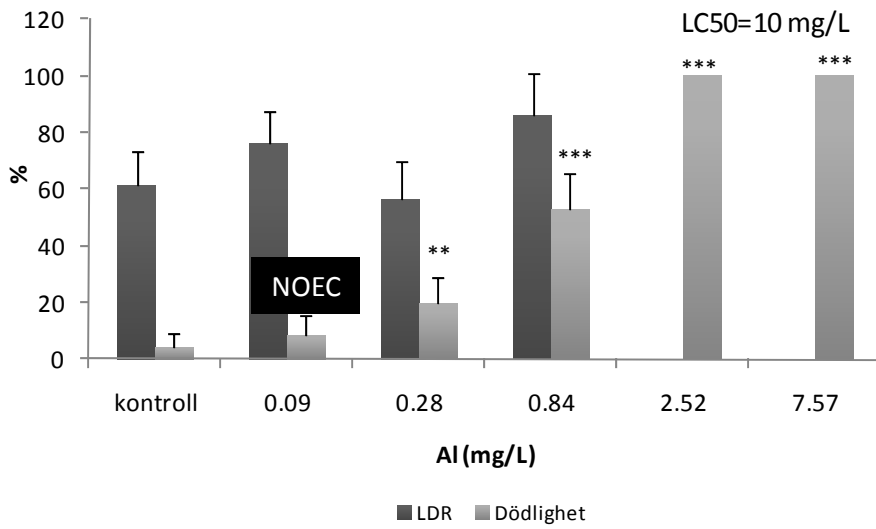
statistiskt underlag för att på ett vetenskapligt sätt kunna fastställa olika aspekter som rör de interaktioner som har studerats i denna studie.

3.5 Subkroniska tester – toxicitet av enskilda ämnen

I Avfall Sverige (2008) och Värmeforsk (2009) har vi redovisat riskkvoter mellan uppmätta halter av enskilda oorganiska komponenter i askklakvatten och litteraturdata för akut toxicitet hos *N. spinipes* för samma komponenter. De i särklass mest känsliga effekterna har vi dock uppvisat med det subkroniska LDR-testet med samma art. För att korrigera för skillnad i känslighet mellan akut och subkronisk toxicitet använde vi för beräkningarna en extrapoleringsfaktor av 10 (dvs. vi delade det akuta LC₅₀-värdet med 10). Extrapoleringsfaktorer är dock inte ett helt säkert sätt att estimeras kroniska effektnivåer utifrån akuta data. För att kunna förklara de observerade toxiska effekterna som olika askklakvatten i tidigare studier har genererat, var ett av huvudmålen med denna studie att testa de ämnen som i något test har genererat en riskkvot större än 1 (vilket vi har haft som ett mått på att ämnet har haft en inverkan på den observerade toxiciteten) med det betydligt känsligare LDR-testet.

I Figur 7 nedan redovisas larvutveckling (Larval Development Ratio) samt dödlighet för samtliga ämnen med tidigare rapporterade farokvoter över 1, dvs. Cu, Zn, Pb, Al, K och Ca. Tydliga koncentrations-responssamband observerades avseende såväl LDR som dödlighet för Cu, Zn och K. För Al och Pb följde dödligheten ett tydligt responssamband medan resultaten för LDR var lite otydligare. Både dessa ämnen är dock kända för att vara svåra att lösa i vatten och vid testade koncentrationer bör de helt eller delvis inte vara i lösning. Troligtvis är så även fallet i de testlösningar som använts för exponering i dessa försök. Det verkar dock som om även den fraktion som faller ut kan vara tillgänglig för det sedimentlevande och partikelätande kräftdjuret *N. spinipes*, annars borde vi helt enkelt inte sett några effekter vid aktuellt pH (cirka 8) och beredda vattenhalter av ämnena. Vidare observerades ingen toxicitet i det koncentrationsintervall som användes i testet med Ca (upp till 160 mg/l). I bilaga C finns en utförligare diskussion kring bl.a. utfällningsproblematik kopplat till Al och Pb i ekotoxikologiska studier.





Figur 7. Larvutveckling (LDR; mörkgrå staplar) och dödlighet (ljusgrå staplar) hos *N. spinipes* exponerad i 6 dagar för Cu, Zn, Pb, Al, K och Ca (i fallande ordning). NOEC identifierad med svart ruta med vit text. För jämförelse är akut toxicitet (LC50) för varje ämne redovisat ovanför respektive diagram.

Figure 7. Larval development ratio (LDR; dark gray bars) and mortality (light gray bars) in *N. spinipes* exposed for 6 days to Cu, Zn, Pb, Al, K and Ca (descending order). NOEC values are denoted with a black box for each element. For comparison acute toxicity (LC50) for each element presented above each diagram.

För att kunna belägga vilka av dessa sex ämnen som *de facto* har bidragit till observerad toxicitet i tidigare ekotoxikologisk testning av komplexa askklakvatten (Avfall Sverige, 2008, 2009 samt Värmeforsk, 2009) har vi i 0 utifrån de enskilda ämnenas LDR-data, beräknat nya farokvoter. Beräkningarna baseras på följande:

- NOEC (No Observed Effect Concentration) för de enskilda ämnena som tagits fram i LDR-testerna i denna studie (*Metall - NOEC*),
- Uppmätta koncentrationer av respektive ämne i de olika utspädda lakvattnen (*MC*),
- Den uppmätta koncentrationen (*MC*) delat med en faktor som korrigerar för skillnaden mellan utspätt lakvatten och den nivå där NOEC för subkronisk toxicitet (LDR/dödlighet) hos *N. spinipes* observerats (*NOEC konc.*). Exempelvis om NOEC observerades vid 0.5% lakvatten så är faktorn satt till 20 (100/0.5).
- Farokvoten (*FK*) är helt enkelt en NOEC-mot-NOEC jämförelse enligt: $FK = \text{Metall-NOEC} / \text{NOEC konc.}$

Om farokvoten (*FK*) är >1 för ett ämne är det en indikation på att ämnet orsakat hela eller delar av den observerade toxiska effekten. 0 visar tydligt att för 4 av de 12 askklakvattnen står K för hela eller stora delar av den observerade toxiciteten (aska B, C, E och F). För aska B (B) var farokvoten för K 0,5 vilket mot bakgrund av osäkerheterna i biotester indikerar att K kan ha betydelse även i det fallet. För 3 av askor (aska A, E och aska I skaktest) har Al en farokvot över 1, vilket indikerar att Al stod för hela eller delar av toxiciteten. För en av dessa askor (aska E) har både K och Al en farokvoten över 1. För Ca finns en osäkerhet kopplad till en eventuell kronisk toxicitet och ett osäkert NOEC-värde men Ca ensamt förefaller inte ha varit av avgörande betydelse för lakvattnens kroniska toxicitet eftersom lakvattnet från aska G, som har den högsta farokvoten för Ca, inte uppvisar någon observerbar subkronisk toxicitet (NOEC >50 %). För aska D kan inget av ämnena ensam förklara den observerade toxiciteten vilket även gäller för aska H både före och efter åldring. Båda dessa askor är flygaskor och andra komponenter i askklakvatten har uppenbarligen stått för toxiciteten, alternativt en kombination av ett flertal komponenter. Aska H är en torvflygaska där innehållet av miljöfarliga metaller mätt som totalhalt är mycket lågt (Avfall Sverige, 2009).

Tabell 8. Subkroniska farokvoter (*FK*) för element som i tidigare ekotoxikologiska undersökningar identifierats som problematiska. Farokvoterna baseras på data från larvutvecklingstest med kräftdjuret *Nitocra spinipes*. Den övre tabellen visar farokvoter för de askor som testats i Värmeforsk (2009a); den undre tabellen visar farokvoter för de askor som testats i Avfall Sverige (2009). Farokvoter > 1 ("förklarar observerad toxicitet i lakvatten") är markerade med svart bakgrund medan farokvoter

i spannet 0.1-1 ("kan ha betydelse för observerad toxicitet") är markerade med en ljusare bakgrundsfärg. Se Tabell 1 för detaljerad information om askorna.

Table 8. Subchronic Hazard Quotients (FK) for elements that have been identified as problematic in earlier studies. The FKs are based on data generated by the *Nitocra spinipes* LDR test. Table above: FKs for ash materials investigated in Värmeforsk (2009a); table below: FKs for ash materials investigated in Avfall Sverige (2009). FKs > 1 are denoted with a black background while FKs 0.1-1 are denoted with a lighter background. See 0 for detailed information about the ash materials.

Element	Aska A (NOEC = 8% eluate)				Aska B (NOEC = 8% eluate)				Aska B (B) (NOEC = <1.3% eluate)			Aska C (NOEC = 1.3% eluate)		
	NOEC	MC	NOEC conc.*	HQ (>1)	MC	NOEC conc.*	HQ (>1)	MC	NOEC conc.*	HQ (>1)	MC	NOEC conc.*	HQ (>1)	
Zn	0.24	0.0058	0.00046	0.0019	0.0031	0.00025	0.0010	0.0045	0.000059	0.00024	3.8	0.049	0.21	
Cu	0.06	0.3	0.024	0.40	0.0037	0.00030	0.0049	0.011	0.00014	0.0024	0.58	0.0075	0.13	
K	35	64	5.1	0.15	1390	111	3.2	1430	19	0.53	3640	47	1.4	
Ca	160	440	35	0.22	1650	132	0.83	1650	21	0.13	4330	56	0.35	
Al	0.09	10	0.80	8.9	0.8	0.064	0.71	0.62	0.0081	0.090	0.0088	0.00011	0.0013	
Pb	0.27	0.0037	0.00030	0.0011	0.001	0.00008	0.00030	0.0022	0.000029	0.00011	7.4	0.096	0.36	

Element	Aska D (NOEC = 0.5% eluate)				Aska E (NOEC = 20% eluate)				Aska F (NOEC = 8% eluate)			Aska G (NOEC = >50% eluate)		
	NOEC	MC	NOEC conc.*	HQ (>1)	MC	NOEC conc.*	HQ (>1)	MC	NOEC conc.*	HQ (>1)	MC	NOEC conc.*	HQ (>1)	
Zn	0.24	1.4	0.007	0.029	0.014	0.0028	0.012	0.002	0.00016	0.00067	0.0047	0.0024	0.0098	
Cu	0.06	0.002	0.00001	0.00017	0.011	0.0022	0.037	0.001	0.00008	0.0013	0.018	0.009	0.15	
K	35	1300	6.5	0.19	552	110	3.2	2710	216	6.2	14	7	0.20	
Ca	160	5260	26	0.16	450	90	0.56	96	7.7	0.048	610	305	1.9	
Al	0.09	0.0057	0.000029	0.00032	0.81	0.16	1.3	0.82	0.066	0.73	0.028	0.014	0.16	
Pb	0.27	15	0.075	0.28	0.15	0.03	0.11	0.0002	0.000016	6.0E-06	0.0002	0.0001	0.00037	

Element	Aska I (NOEC = 1.3% eluate)				Aska I (NOEC = >50% eluate)				Aska J (NOEC = 1.3% eluate)			Aska J (NOEC = 20% eluate)		
	NOEC	MC	NOEC conc.*	HQ (>1)	MC	NOEC conc.*	HQ (>1)	MC	NOEC conc.*	HQ (>1)	MC	NOEC conc.*	HQ (>1)	
Zn	0.24	0.0023	0.00003	0.00012	0.164	0.082	0.34	<0.002	0.00003	0.00011	<0.002	0.0004	0.0017	
Cu	0.06	0.0144	0.00019	0.0031	0.0064	0.0032	0.053	<0.001	0.00001	0.00022	<0.001	0.0002	0.0033	
K	35	30.2	0.39	0.011	5.5	2.75	0.079	29.4	0.38	0.011	59.6	12	0.34	
Ca	160	89.1	1	0.0072	28.6	14.3	0.089	1150	15	0.093	807	161	1.0	
Al	0.09	42.7	0.56	6.2	0.026	0.013	0.14	0.012	0.00015	0.0017	0.037	0.0074	0.082	
Pb	0.27	0.00049	0.000006	0.000024	<0.0002	0.0001	0.0004	0.0145	0.00019	0.0007	0.0109	0.0022	0.0081	

Sammanfattningsvis visar dessa resultat att det vi tidigare har misstänkt, dvs. att K står för en stor del av den toxicitet som observerats i tidigare studier, verkar stämma. Detta är väldigt intressant eftersom K inte klassificeras som farlig enligt kemikalielagstiftningen. I anslutning till detta bör också nämnas att halten av K egentligen är högre än den tillsatta mängden eftersom det naturliga brackvattnet innehåller cirka 75 mg/L (se tabell 1 i bilaga C). NOEC för K bör således egentligen ligga på cirka 100 (35 + 75) mg/L. Eftersom vi i denna studie såg signifikanta effekter på larvutveckling vid en nominell koncentration av 105 mg/L, d.v.s. en faktisk koncentration på cirka 180 (105 + 75) mg/L, betyder det att kräftdjuret har en mycket snäv toleransgräns för detta i naturen vanligt förekommande element (dvs. effekter vid ett 70 % påslag av K). Troligtvis är koncentrationen av K i naturliga havs- och brackvattenmiljöer relativt stabil och djuren har genom evolutionen anpassat sig till denna nivå. Samtidigt visar detta hur känsliga biologiska organismer kan vara för små förändringar i levnadsförhållanden. Några få studier finns tillgängliga inom litteraturen där toxiciteten av K har testats på kräftdjur och andra vattenlevande organismer (Imlay, 1973; Fisher et al., 1991; Wildridge et al., 1998; Romano and Zeng 2007, 2009). Studien av Romano och Zeng (2009) visar t.ex. på en hög känslighet för K hos krabban *Portunus pelagicus*, i vilken subletala effekter observerades redan vid ett tillskott av 10 % av den naturliga halten (cirka 300 mg/l) som finns i det marina vatten djuren lever i. Hur man rent regulatoriskt ska hantera resultat och erfarenheter som dessa är svårt att säga, men kommer sannolikt ha betydelse för utformningen av framtida vägledningsdokument.

Våra resultat visar vidare att mer traditionellt erkända farliga ämnen, som Pb, Cu och Zn, verkar ha haft ringa betydelse för observerad toxicitet för asklakvatten som studerats i tidigare genomförda Värmeforsk och Avfall Sverige projekt. Detta är också intressant eftersom askors farlighet ofta förknippas med just dessa ämnen. Även detta kan vara av stor betydelse för utformning av framtida vägledningsdokument på området. Dock visade denna studie att Al, som är förknippat med svåröslighet i vatten, kan förklara hela eller delar av observerad toxicitet i vissa asklakvatten, dock inte i samma utsträcknings som K.

4 Slutsatser

I detta projekt har utlakningsbeteende för olika potentiellt toxiska ämnen från en bottenaska från avfallsförbränning (slaggrus) som funktion av lakmetod, L/S, pH och partikelstorlek studerats. Resultaten är tänkta att utgöra underlag till lagstiftning för klassificering av avfall med avseende på faroegenskapen H14 (ekotoxiskt). Val av testförhållande vid klassificering, såsom val av lakmetodik, kan ha en direkt betydelse för efterföljande farobedömning. Vidare har möjliga samverkande ekotoxiska effekter i komplexa lakvatten utvärderades med stöd av ekotoxicitetstester. Syntetiska asklakvatten, med tillsats av kända mängder av olika ämnen och blandningar av ämnen, testades med kräftdjuret *Nitocra spinipes*. Detta gjordes i syfte att utvärdera om eventuella synergistiska eller antagonistiska effekter mellan vissa element kan ha någon betydande inverkan för tolkningen av erhållna testresultat vid ekotoxikologisk testning av askor. Slutligen gjordes en ny utvärdering av testresultat från tidigare utförda Värmeforsk- och Avfall Sverige projekt baserat på i denna studie framtagna data om *N. spinipes* känslighet för olika metallhalter i syfte att försöka knyta observerade toxiska effekter från asklakvatten till specifika ämnen eller kombinationer av ämnen.

Baserat på resultaten från detta projekt kan följande slutsatser dras:

Lakparametrar

- Partikelstorlek vid lakning hade inverkan på det genererade asklakvattnets sammansättning och beräknade toxicitet (toxicitetsindex, TI för *N. spinipes*). Lakning av partikelfraktioner <0,125 mm gav ett lakvatten med ett TI som var cirka dubbelt så stort som lakvatten från lakning av fraktioner <4 eller <1 mm.
- Lakningen med skakmetod gav något större utlakning och beräknade TI jämfört med utlakning med pH-statisk metod. Effekten var mindre än en faktor 2.
- Lakning vid slaggrusets naturliga pH (cirka 10) genererade ett betydligt mer toxiskt lakvatten (högre TI) än då lakning utfördes vid pH 7. Detta orsakades av att utlakningen av Al, som helt dominerade beräknat TI vid pH 10, minskade kraftigt vid lakning av det studerade lakvattnet vid pH 7. Utlakningen av vissa ämnen, Ca, Cu och Zn, ökade dock med sänkt pH vid lakningen.
- Lakning vid L/S 1000 gav upphov till ett i teorin mindre toxiskt lakvatten (lägre TI) från det studerade slaggruset, och därmed en mindre konservativ klassificering av materialet, än då lakning gjordes vid L/S 10. Vid askans naturliga pH (cirka 10) berodde detta till övervägande del på att halten Al i lakvattnet var lägre vid L/S 1000 än vid L/S 10. Vid pH 7 berodde lägre TI med ökat L/S framförallt på och att halten Ca och Cu i lakvattnet var lägre vid L/S 1000 än vid L/S 10. Ökning av L/S vid lakning med två tiopotenser (från 10 till 1000) minskade endast TI i lakvattnet med cirka en tiopotens.
- Lakning vid L/S 1000 gav resultat med likvärdig repeterbarhet som lakning vid L/S 10 (vilket är standard för pH-stattest SS-CEN/TS 14997 och skaktest SS-EN 14735). Användning av L/S 1000 vid faroklassificering av askor, vilket rekommenderats i denna studie för att till viss del harmonisera testmetoder för avfallsklassificering med de i kemikalielagstiftningen, bör därför vara möjligt ur kvalitetssynpunkt.

Toxiska samverkans effekter

- För *N. spinipes* verkar akuttoxiska samverkans effekter mellan Cu och Ca samt Cu och Pb vara försumbara då de förekommer i gemensam lösning. Däremot verkar K styra toxiciteten över Ca då dessa element finns i gemensam lösning.
- För Pb och Al kan utfällningsreaktioner ske vid pH-intervall lämpliga för biotestning (cirka pH 6-9) vilket begränsar ämnenas tillgänglighet. Såväl Pb som Al ger dock effekt på dödlighet för *N. spinipes* i subkroniska LDR-tester trots utfällning i testsystemet, vilket skulle kunna inträffa vid karaktärisering av asklakvatten.

Ekotoxikologisk faroklassificering med biotester

- Subkroniska LDR-test med *N. spinipes* på individuella element (Cu, Zn, Pb, Al, K och Ca) visade att halterna av K och Al i ett flertal asklakvatten studerade i tidigare Värmeforsk- och Avfall Sverige-projekt är tillräckligt höga för att enskilt kunna orsaka en subkronisk toxicitet. Även Ca, Cu och Zn kan bidra till akut eller subkronisk akvatisk toxicitet för asklakvatten men dessa ämnen var av underordnad betydelse.
- Av de studerade ämnena är Ca, K och Al inte klassificerade som miljöfarliga enligt kemikalielagstiftningen. Toxiska effekter orsakade av dessa ämnen i asklakvatten kan därför orsaka att askor felaktigt klassificeras som farligt avfall om bedömningen enbart baseras på biotester. En kombination av kemiska och biologiska tester, och god kunskap om använda testorganismer, är därför att föredra.
- Av särskilt intresse är *N. spinipes* höga känslighet för K, i vilken subkroniska effekter kan påvisas redan vid ett tillskott av >70% av bakgrundshalten i naturen. Eftersom K inte räknas som ett farligt element men ändå står för merparten av den toxicitet som observerats i tidigare undersökningar av asklakvatten, kan dessa resultat ha stor regulatorisk betydelse för framtida klassificeringar av askor.
- För 7 av 9 förbränningsaskor (9 av 12 asklakvatten) som studerats i tidigare genomförda Värmeforsk och Avfall Sverige projekt har toxiciteten i subkroniska biotest med *N. spinipes* kunnat förklaras baserat på deras innehåll av individuella element i asklakvattnet. För 2 flygaskor (3 asklakvatten) har den uppmätta toxiciteten i asklakvatten inte kunnat förklaras. En av dessa askor är en torvflygaska med generellt mycket låga totalhalter av miljöfarliga grundämnen.

5 Rekommendationer

- Den viktigaste parametern för utlakning och tillgänglighet av metaller är i allmänhet pH. Vid biotestbaserad ekotoxikologisk avfallsklassificering av askor bör lakning och toxicitetstestning ske vid minst två olika pH för att inte riskera att valda testförhållanden underskattar det studerade materialets inneboende fara och för att anpassa testförfarandet till regelverket för klassificering av kemiska ämnen (CLP). De mest extrema förhållanden för vilket det är möjligt att genomföra ett akvatiskt ekotoxicitetstest utan störande interferenser för ett flertal testorganismer representeras av pH 6 och pH 8,5. För de flesta ämnen kommer det antingen föreligga ett löslighetsminimum eller en kontinuerligt ökade löslighet i pH-intervallet 6 till pH 8,5. Det bör därför vara tillräckligt att genomföra testning vid båda dessa ändrar av intervallet och ändå få ett representativt mått på den största ekotoxikologiska risken med askor som underlag för klassificering. Lakning med buffertlösningar är olämplig i förhållande till efterföljande toxicitetstester utan istället bör pH justeras genom tillsats av bas (NaOH) eller syra (HCl) enligt de principer som tillämpas i CEN/TS 14997 eller CEN/TS 14429. En lakning bör dessutom ske vid askans eget pH.
- Vid avfallsklassificering med avseende på biotester rekommenderas att lakning sker vid högre L/S-tal än vad som normalt används vid lakning av avfall (normalt L/S ≤ 10) då detta till viss del harmoniserar avfallslagstiftningen med kemikalielagstiftningen. Kemiska ämnen och blandningar klassificeras med avseende på ekotoxicitet utifrån effekter vid 1, 10 och 100 mg/l (motsvarande L/S 1 000 000, 100 000 och 10 000). Det kan emellertid vara svårt att erhålla resultat med acceptabel kvalitet (robusta, repeterbara och reproducerbara) vid lakning av avfall vid så höga L/S som $\geq 10 000$ eftersom avfallsmaterial ofta är betydligt mer heterogena än kemiska ämnen och blandningar. Lakning vid L/S 1000 gav resultat med acceptabel repeterbarhet för slaggruset i detta projekt och kan vara ett lämpligt L/S-tal vid ekotoxisk faroklassificering av askor som dessutom ger en extra säkerhetsmarginal i förhållande till kemikalierregelverket. Vid riskbedömning av avfall bör emellertid betydligt lägre L/S-tal väljas.
- Lakningar med pH-stattest enligt SIS-CEN/TS 14997 visade sig ge kontaminering av blankprover genom förhöjda värden av K, Cl och DOC. Kontamineringen stör utvärdering av både lakning och biotester och kan påverka biotillgänglighet eller samverkande toxiska effekter i biotester. En metod där pH-justering sker genom initial syra/bastillsats enligt CEN/TS 14429 rekommenderas därför som ett alternativ som eliminerar denna källa till kontaminering.
- Vid avfallsklassificering baserad på biotester är det viktigt att testorganismer som är välkända och väldokumenterade används. Annars finns det en risk att klassificeringen blir felaktig och baseras på toxiska responser orsakade av ämnen som normalt inte klassificeras som farliga (t.ex. K och Al).

Vid avfallsklassificering med avseende på ekotoxicitet är det för en korrekt helhetsbedömning viktigt att ta hänsyn till att element som föreligger helt eller delvis som utfällningar i samband med t.ex. pH-justering (t.ex. Al och Pb) ändå kan vara tillgängliga i biotestet och påverka responsen, åtminstone för partikelätande organismer som t.ex. *N. spinipes*.

6 Förslag till fortsatt forskningsarbete

- Utvärdering om lakning vid L/S 1000, och även L/S 10 000, ger lika goda repeterbara resultat för fler askor, med olika egenskaper, än det studerade slaggruset.
- Robusthetstest (känslighetstest) och reproducerbarhetstest (variation mellan tester utförda vid olika laboratorier) av pH-stattest vid L/S 1000 för ekotoxikologisk faroklassificering av askor.
- Utvärdering av hur den toxiska effekten i biotester på asklakvatten skiljer sig då testning görs vid olika pH (förslagsvis pH 6 och 8,5).
- Bättre kunskap om hur störningar från hög utlakad halt av Al från askor påverkar den toxiska responsen i biotester
- Utvärdering av hur andra subkroniska biotest än LDR för *N. spinipes* påverkas av ickefarliga ämnen som K och Al
- Bättre kunskap om hur fördelningen av toxiska metaller ser ut mellan biotillgänglig och svårtillgänglig fraktion i lakvatten (t.ex. utfällningar) baserat på specifika analysmetoder som t.ex. passiva provtagare.
- Detaljerade studier av interaktioner mellan vanligt förekommande element i asklakvatten under subkronisk exponering.

7 Litteraturreferenser

- Alexopolus E, McCrohan CR, Powell JJ, Jugdaohsing R, White KN., 2003. Bioavailability and toxicity of freshly neutralized aluminium to the freshwater crayfish *Pacifastacus leniusculus*. *Arc Environ Contam Toxicol*.2003 Nov; 45 (4):509-14
- Avfall Sverige 2004: *Vägledning Klassificering av farligt avfall*, RVF Utveckling, Malmö 2004, Rapport 2004:07
- Avfall Sverige 2005: *Vägledning vid klassificering av förbränningsrester enligt Avfallsförordningen*, RVF Utveckling, Malmö 2005, Rapport 2005:01
- Avfall Sverige 2007a: *Uppdaterade bedömningsgrunder för förorenade massor*. Avfall Sverige Utveckling. Malmö 2007, Rapport 2007:01
- Avfall Sverige 2007b: *Underlag för val av referenssubstans för zink inför klassning enligt Avfallsförordningen*, Avfall Sverige Utveckling, Malmö 2007, Rapport F2007:03
- Avfall Sverige 2008: Stiernström, S., Hemström, K., Wik, O., Carlsson, G., Breitholtz, M., *Metodik för klassificering av H14-kriteriet i Avfallsförordningen - Förslag till biotestbatteri för klassificering av farligt avfall, Ekotoxikologisk testning med bakterie, alg, kräftdjur och fiskembryo*, Avfall Sverige utveckling, Malmö 2008, Rapport 2008:16
- Avfall Sverige 2009: Stiernström, S., Bengtsson, B-E., Breitholtz, M., Hemström, K., Wik, O., *Uppföljning till projektet "Metodik för klassificering av H14-kriteriet i Avfallsförordningen"*, Avfall Sverige Utveckling, Malmö 2009, Rapport U2009:23
- Breitholtz M., Bengtsson, B-E., 2001: *Oestrogens have no Hormonal Effect on the Development and Reproduction of the Harpacticoid Copepod Nitocra spinipes*, *Marine Pollution Bulletin* 42, 879-886
- Direktiv 2008/98/EG: *Europaparlamentets och rådets direktiv 2008/98/EG av den 19 november 2008 om avfall och om upphävande av vissa direktiv*, Europeiska unionens officiella tidning, L312: 3-29
- Ds 2009:37: *Nya avfallsregler*, Miljödepartementet, Stockholm 2009
- European Commission 2008: *Regulation (EC) No 1272/2008 of the European Parliament and of the Council of 16 December 2008 on classification, labelling and packaging of substances and mixtures, amending and repealing Directives 67/548/EEC and 1999/45/EC, and amending Regulation (EC) No 1907/2006* ,. Europeiska unionens offentliga tidning, L353: 1-1355

-
- Fisher, S.W., Stromberg, P., Bruner, K.A., Boulet, L.D., 1991. *Molluscicidal activity of potassium to the zebra mussel, Dreissena polymorpha: toxicity and mode of action.* Aquatic Toxicology 20, 219-234.
- Imlay, M., 1973. *Effects of potassium on survival and distribution of freshwater mussels.* Malacologia 12, 61-69.
- KIFS 2005:7: *Kemikalieinspektionens föreskrifter om klassificering och märkning av kemiska produkter*
- KemI 2011, *Kemikalieinspektionens databas N-Class.* <http://apps.kemi.se/nclass/>. Access 2011-01-
- Moser, H., Römbke, J. (Eds), 2009: *Ecotoxicological Characterization of Waste. Results and Experiences of an International Ring Test*, Springer, New York, 2009
- Naturvårdsverket 2011: *Sammanvägning av vissa farliga egenskaper i avfallsförordningen*, Hämtas från Naturvårdsverkets hemsida <http://www.naturvardsverket.se/sv/Produkter-och-avfall/Avfall/Hantering-och-behandling-av-avfall/Klassning-av-farligt-avfall/Valj-lampligaste-koden-i-avfallsforordningen/Avfallens-farliga-egenskaper-H1-H14/>, 2011.
- OECD 2001: *Guidance on transformation/dissolution of metals and metal compounds in aqueous media*, OECD Environment, Health and Safety Publications, Series on Testing and Assessment No. 29, Annex 10, Environment Directorate, Organisation for Economic Co-operation and Development
- Poléo A.b.s., 1995. *Aluminium polymerization – a mechanism of acute toxicity of aqueous aluminium to fish.* Aquatic Toxicology. Volume 31, Issue 4, April 1995, pp 347-356.
- Romano, N., Zeng, C., 2007. *Acute toxicity of sodium nitrite, potassium nitrate and potassium chloride and their effects on the haemolymph composition and gill structure of early juvenile blue swimmer crabs (Portunus pelagicus Linnaeus 1758) (Decapoda, Brachyura, Portunidae).* Environment Toxicology Chemistry. 26, 1955-1962.
- Romano, N., Zeng, C. 2009: *Subchronic exposure to nitrite, potassium and their combination on survival, growth, total haemocyte count and gill structure of juvenile blue swimmer crabs, Portunus pelagicus.* Ecotoxicology and Environmental Safety 72 1287–1295.
- Stiernström, S., Hemström, K., Wik, O., Carlsson, G., Breitholtz, M., 2011: *An ecotoxicological approach for hazard identification of energy ash,* Waste Management, 31 (2) 342-352.
- SFS 2001:1063: *Avfallsförordning*

- SIS 1991: *Vattenundersökningar - Bestämning av toxicitet hos kemiska produkter och avloppsvatten med kräftdjuret Nitocra spinipes Boeck - Statisk metod, akut toxicitet*, Svensk standard SS 02 81 06
- Teien HC, Kroglund F, Salbu B, Rosseland BO., *Gil reactivity of aluminium –species following liming*. Sci Total Environ. 2006 Apr 1; 358(1-3):206-20
- Värmeforsk 2004: Adler, P., Haglund, J-E., Sjöblom, R., *Vägledning för klassificering av förbränningsrester enligt Avfallsförordningen*, Stockholm 2004, Värmeforsk rapport 866
- Värmeforsk 2009a: Stiernström, S., Hemström, K., Wik, O., Carlsson, G., Breitholtz, M., *Metodik för klassificering av H14-kriteriet i Avfallsförordningen*, Stockholm 2009, Värmeforsk rapport 1092
- Värmeforsk 2009b: Bendz D, Suer P, van der Sloot H, Kosson D och Flyhammar P *Modelling of leaching and geochemical processes in an aged MSWIBA subbase layer*, Värmeforsk rapport 1112
- Wildridge, P.J., Werner, R.G., Doherty, F.G., Neuhauser, E.F., 1998. *Acute toxicity of potassium o the adult zebra mussel (Dreissena polymorpha)*. Arch. Environment Contamination Toxicology. 34, 265-270.
- Ytreberg, E., Karlsson, J., Eklund, B., 2010. *Comparison of toxicity and release rates of Cu and Zn from anti-fouling paints leached in natural and artificial brackish seawater*. Science of the Total Environment, 408 2459-2466.

Bilagor

A Analysresultat

A.1 Skaktester

Lakmetod		skak ¹	skak ¹	skak	skak	skak	skak	skak	skak	skak
Partikelstr		<4mm	<4mm	<4mm	<1 mm	<1 mm	<1 mm	<0,1 mm	<0,1 mm	<0,1 mm
pH		egen pH	egen pH	egen pH	egen pH	egen pH	egen pH	egen pH	egen pH	egen pH
L/S		10	10	10	10	10	10	10	10	10
Ca	mg/l	87,9	90,3	80,8	89,1	88,7	87,1	100	100	101
Fe	mg/l	<0,004	<0,004	<0,004	<0,004	<0,004	<0,004	<0,004	<0,004	<0,004
K	mg/l	30,3	30,1	34,8	37,3	37	36,8	42,7	45	44,6
Mg	mg/l	0,118	0,124	0,15	0,113	0,118	0,124	<0,09	<0,09	<0,09
Na	mg/l	186	185	213	227	225	222	239	244	247
S	mg/l	120	121	130	137	133	133	131	131	131
Al	µg/l	40700	44700	32000	43700	44600	41900	86300	88500	90000
As	µg/l	<1	<1	<3	<2	2,9	<3	<2	<2	<2
Ba	µg/l	25,7	27,6	26	26,6	26,9	26	43,6	44,8	44,7
Cd	µg/l	<0,05	0,391	<0,05	<0,05	<0,05	<0,05	<0,05	<0,05	<0,05
Co	µg/l	0,0694	<0,05	<0,05	<0,05	<0,05	<0,05	<0,05	<0,05	<0,05
Cr	µg/l	1,82	3,7	6,99	6,33	5,1	5,85	0,8	0,555	<0,5
Cu	µg/l	15,2	13,6	15,9	17	19,1	16,9	29,3	29,2	28,7
Hg	µg/l	<0,02	<0,02	<0,02	<0,02	<0,02	<0,02	<0,02	<0,02	<0,02
Mn	µg/l	<0,2	<0,2	<0,2	0,27	0,38	0,344	0,32	0,293	0,462
Ni	µg/l	<0,5	<0,5	<0,5	<0,5	<0,5	<0,5	<0,5	<0,5	<0,5
Pb	µg/l	0,788	<0,2	0,733	0,312	0,3	0,326	<0,2	<0,2	<0,2
Zn	µg/l	2,25	2,34	2,36	<2	2,25	2,04	3,97	<2	4,06
TIC	mg/l	0,71	0,68	1,59	1,66	1,74	1,78	2,35	2,27	2,32
DOC	mg/l	3,7	2,54	4,56	4,71	4,37	3,61	7,03	8,62	6,46
Cl	mg/l	181	181	166	171	173	171	202	183	186
F	mg/l	0,666	0,924	<0,200	<0,200	<0,200	<0,200	0,356	0,266	0,25
SO4	mg/l	383	405	345	366	366	368	416	372	373
SO4 kalk	mg/l	360	363	390	411	399	399	393	393	393
pH		10,3	10,1	10,2	10,1	10,3	10,3	10,1	10,1	10,3
Kond	mV	144	137	155	170	155	159	169	168	153
L/S	l/kg	10	10	10,1	10	10	10	10	10	10

¹ Data från Avfall Sverige 2009: Stiernström, S., Bengtsson, B-E., Breitholtz, M., Hemström, K., Wik, O., Uppföljning till projektet "Metodik för klassificering av H14-kriteriet i Avfallsförordningen", Avfall Sverige Utveckling, Malmö 2009, Rapport U2009:23

A.2 pH statter vid L/S 10 och egen pH

Lakmetod		pH-stat	pH-stat	pH-stat	pH-stat	pH-stat	pH-stat
Partikelstorlek		<1 mm	<1 mm	<1 mm	<0,125 mm	<0,125 mm	<0,125 mm
pH		egen pH	egen pH	egen pH	egen pH	egen pH	egen pH
L/S		10	10	10	10	10	10
Ca	mg/l	81,9	81,7	72	79,7	75,4	88,9
Fe	mg/l	0,0084	0,0041	0,0635	0,0221	<0,004	<0,004
K	mg/l	53	56,2	40,2	45,3	46,2	48,5
Mg	mg/l	0,233	0,163	0,308	0,108	<0,09	0,0947
Na	mg/l	210	214	208	219	226	238
S	mg/l	133	132	131	115	116	128
Al	µg/l	27400	30600	21500	59700	65900	71800
As	µg/l	<1	<1	<2	<3	<3	<2
Ba	µg/l	27,1	25,9	31	40,5	39,8	44,3
Cd	µg/l	<0,05	<0,05	<0,05	<0,05	<0,05	<0,05
Co	µg/l	0,0833	<0,05	0,0723	<0,05	<0,05	<0,05
Cr	µg/l	2,71	4,35	1,8	0,851	<0,5	1,02
Cu	µg/l	14,2	12,5	15,4	24,5	20,2	23,3
Hg	µg/l	0,148	0,061	<0,02	<0,02	<0,02	<0,02
Mn	µg/l	1,02	0,443	1,07	0,8	0,368	<0,2
Ni	µg/l	1,93	<0,5	0,835	0,638	0,507	0,665
Pb	µg/l	<0,2	<0,2	<0,2	0,588	<0,2	<0,2
Zn	µg/l	<2	<2	<2	6	<2	<2
TIC	mg/l	2,38	2,08	2,62	2,7	2,11	2,3
DOC	mg/l	5,97	4,53	10,9	35,9	23,7	23,6
Cl	mg/l	227	239	161	182	212	222
F	mg/l	0,747	1,01	0,457	<0,200	<0,200	0,293
SO4	mg/l	410	422	412	348	401	436
SO4 kalk	mg/l	399	396	393	345	348	384
pH		10,1	10,1	9,8	10	10,1	10,1
Konduktivitet	mV	166	165	161	169	167	168
L/S	l/kg	10	10	10	10	10	10

A.3 pH statter vid L/S 10 och pH 7

Lakmetod		pH-stat	pH-stat	pH-stat	pH-stat	pH-stat	pH-stat
Partikelstorlek		<1 mm	<1 mm	<1 mm	<0,125 mm	<0,125 mm	<0,125 mm
pH		7	7	7	7	7	7
L/S		10	10	10	10	10	10
Ca	mg/l	421	395	433	933	853	843
Fe	mg/l	<0,004	<0,004	0,0087	0,0115	0,0078	<0,004
K	mg/l	45,2	45,8	48,3	69,6	63,7	64,7
Mg	mg/l	5,01	5,95	7	35	33,4	32,5
Na	mg/l	218	212	209	267	257	250
S	mg/l	126	125	127	141	133	131
Al	µg/l	93,1	70,9	77,9	74,4	126	50,1
As	µg/l	8,07	<6	<6	22,9	3,76	<20
Ba	µg/l	86,1	97	104	214	198	195
Cd	µg/l	1,08	1,44	1,57	3,46	5,27	4,77
Co	µg/l	6,51	6,68	5,35	51,2	70,4	69
Cr	µg/l	7,12	2,2	2,2	2,25	7,49	1,49
Cu	µg/l	24,5	25,2	27,4	86	123	122
Hg	µg/l	<0,02	<0,02	<0,02	<0,02	<0,02	<0,02
Mn	µg/l	159	217	225	1390	2120	2210
Ni	µg/l	10,6	20,9	21,8	59,9	71,8	80,9
Pb	µg/l	0,222	0,237	0,275	0,414	0,634	0,475
Zn	µg/l	71,3	96,8	98,7	466	1030	1070
TIC	mg/l	18	17	15,6	37,4	20,6	30,6
DOC	mg/l	8,76	7,48	11	6,74	21,6	41,4
Cl	mg/l	800	860	838	1800	1790	1970
F	mg/l	<0,600	<0,200	<0,600	<0,600	<0,200	<0,200
SO4	mg/l	382	378	377	430	348	403
SO4 kalk	mg/l	378	375	381	423	399	393
pH		7	7,1	7	7,1	7	7
Konduktivitet	mV	362	343	385	709	654	649
L/S	l/kg	9,7	9,7	9,7	10	10,3	10,3

A.4 pH stattester vid L/S 1000 och egen pH respektive pH 7

Lakmetod		pH-stat	pH-stat	pH-stat	pH-stat ²	pH-stat ²	pH-stat
Partikelstorlek		<0,125 mm	<0,125 mm	<0,125 mm	<0,125 mm	<0,125 mm	<0,125 mm
pH		egen pH	egen pH	egen pH	7	7	7
L/S		1000	1000	1000	1000	1000	1000
Ca	mg/l	10,8	10,8	10,9	28,9	28,2	30,7
Fe	mg/l	0,064	0,09	0,0557	<0,004	<0,004	0,0046
K	mg/l	8,22	9,89	7,52	4,99	6,01	6,17
Mg	mg/l	0,256	0,267	0,239	0,826	0,81	0,821
Na	mg/l	3,04	2,98	3,1	3,78	3,63	3,43
S	mg/l	1,8	1,79	1,9	2,18	2,15	2,21
Al	µg/l	4470	3980	4000	29,7	22,2	48,1
As	µg/l	1,94	2,1	1,72	<1	<1	1,7
Ba	µg/l	15,7	16,3	14,1	48,3	52,5	60
Cd	µg/l	<0,05	<0,05	<0,05	0,283	0,371	0,344
Co	µg/l	<0,05	0,107	0,117	2,72	2,79	4,26
Cr	µg/l	3,19	3,58	5,03	0,889	0,741	0,511
Cu	µg/l	9,58	9,98	6,92	4,99	7,75	15,8
Hg	µg/l	<0,02	<0,02	<0,02	0,0691	<0,02	<0,02
Mn	µg/l	3,68	4,52	2,62	90,2	101	77,7
Ni	µg/l	0,599	0,64	0,823	3,41	4,01	8,15
Pb	µg/l	1,91	2,32	1,4	<0,2	<0,2	<0,2
Zn	µg/l	10,3	12,9	9,21	131	197	206
TIC	mg/l	3,75	4,05	3,84	0,67	0,62	1,66
DOC	mg/l	3,21	2,43	2,21	2,4	1,5	0,74
Cl	mg/l	8,51	10,2	8,03	58	59	50,7
F	mg/l	<0,200	<0,200	<0,200	<0,2	<0,2	<0,200
SO4	mg/l	<5,00	<5,00	5,14	5,7	5,7	6,39
SO4 kalk	mg/l	5,4	5,37	5,7	6,54	6,45	6,63
pH		9,5	9,4	9,7	7	7	7
Konduktivitet	mV	10,6	11,6	10,4	23,1	23,4	25,3
L/S	l/kg	1000	1000	1000	1010	1010	1000

² Data från Avfall Sverige 2009: Stiernström, S., Bengtsson, B-E., Breitholtz, M., Hemström, K., Wik, O., Uppföljning till projektet ”Metodik för klassificering av H14-kriteriet i Avfallsförordningen”, Avfall Sverige Utveckling, Malmö 2009, Rapport U2009:23

A.5 Totalhaltsanalyser (från Avfall Sverige (2009))

		Slaggrus	
		<4 mm	<0,125 mm
Al	mg/kg TS	64600	74600
Ca	mg/kg TS	99300	101000
Fe	mg/kg TS	99300	101000
K	mg/kg TS	10200	9710
Mg	mg/kg TS	13900	13400
Mn	mg/kg TS	1990	1730
Na	mg/kg TS	38400	39100
P	mg/kg TS	4500	4540
Si	mg/kg TS	208000	207000
Ti	mg/kg TS	7370	7490
As	mg/kg TS	32,2	30,6
Ba	mg/kg TS	1420	1350
Be	mg/kg TS	0,975	1,29
Cd	mg/kg TS	4,34	4,9
Co	mg/kg TS	42,9	40,9
Cr	mg/kg TS	656	674
Cu	mg/kg TS	12800	8780
Hg	mg/kg TS	0,0354	0,0509
Mo	mg/kg TS	27,2	27,8
Nb	mg/kg TS	8,89	8,95
Ni	mg/kg TS	171	220
Pb	mg/kg TS	1200	1160
S	mg/kg TS	3020	3050
Sb	mg/kg TS	79,2	73,2
Sc	mg/kg TS	4,11	3,52
Se	mg/kg TS	0,74	1,18
Sn	mg/kg TS	175	217
Sr	mg/kg TS	273	283
V	mg/kg TS	36,3	45,5
W	mg/kg TS	< 60	108
Y	mg/kg TS	13,5	13,1
Zn	mg/kg TS	4090	4000
Zr	mg/kg TS	313	243
TS	%	98,2	98,8
LOI	% TS	2,5	2
TOC	% TS	0,66	0,461
TIC	% TS	0,662	0,492
TC	% TS	1,32	0,953

A.6 96hr-LC₅₀- och NOEC-värden för beräkning av toxicitetsindex (TI) för *N. spinipes*

Metall (mg/l)	Akute toxicitet 96hr-LC ₅₀ (95%KI)	(sub)kronisk toxicitet NOEC
Zn ²⁺	1.5 (9.93-2.3) [‡]	0.24
Cu ²⁺	0.98 (0.75-1.29)	0.06
K ⁺	603 (530-698)	35
Ca ²⁺	889 (734-1134)	>160 [§]
Al ³⁺	10 (7.5-13) [‡]	0.09
Pb ²⁺	2.27 (1.63-4.07)	0.27

[‡] 96hr-LC₅₀ för Zn och Al har inte bestämts i denna studie. Värdena har hämtats från en intern databas på ITM

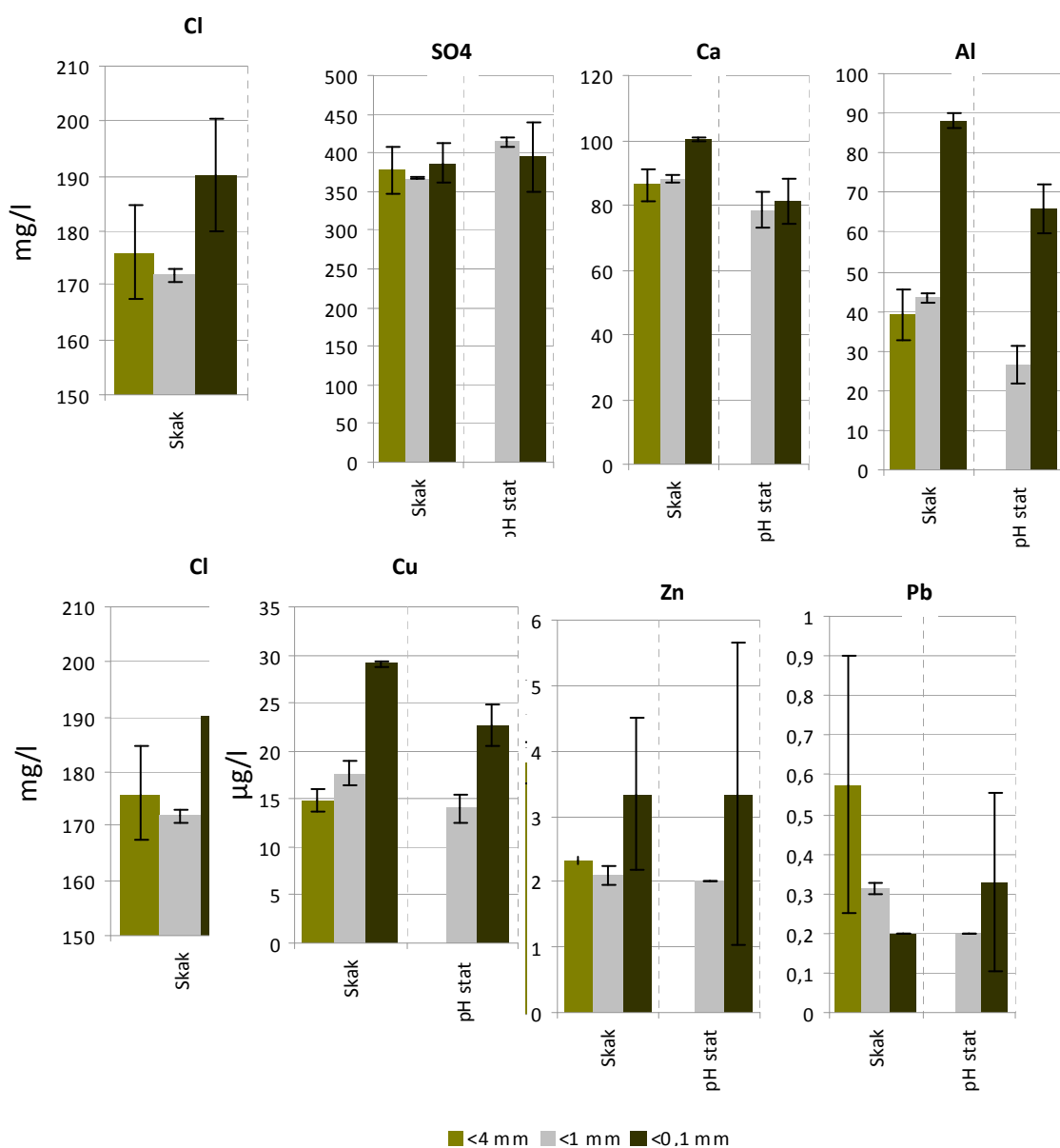
[§] Ingen subkronisk toxicitet kunde påvisas vid en Ca-koncentration på 160 mg/l.

B Inverkan av lakparametrar på specifika ämnen

K, Cl och DOC visas enbart för skaktesterna då det visade sig förekomma så höga halter av dessa ämnen i blankproverna från pH-stattesterna att det inte är möjligt att utvärdera resultaten på ett acceptabelt sätt (se vidare avsnitt 3.3 i huvudtexten).

B.1 Inverkan av partikelstorlek

Inverkan av partikelstorlek på halten i lakvattnet vid askans naturliga pH av var och ett av de ämnen som förväntas ha störst inverkan på lakvattnets toxicitet (Ca, K, Al, Cu, Pb och Zn) visas i Figur 1. Figuren visar även inverkan av partikelstorlek på halten av Cl, SO₄ och DOC i lakvattnet.



Figur 1. Halt av Ca, K, Al, Cu, Pb, Zn, Cl, SO₄ och DOC i lakvatten från lakningar utförda med olika partikelstorlekar i skak- och pH-stattester. L/S var 10 och pH askans naturliga (ca pH 10) i alla tester. Staplarna visar medelvärden och felstaplarna standardavvikelse (n=3).

Figure 1. Concentration of Ca, K, Al, Cu, Pb, Zn, Cl, SO₄ and DOC in leachate from leaching tests performed with different particle size fractions in batch and pH-static tests. L/S was 10 and natural ash pH (ca pH 10) in all tests. The bars show means and the error bars standard deviations (n = 3).

De ämnen som påverkades mest av förändrad partikelstorlek i laktesterna var Al och Cu. För dessa ämnen var halterna i lakvattnen betydligt högre då lakning utförts med partikelfraktioner <0,125 mm än med fraktioner <4 respektive <1 mm, både i skak- och pH-stattesterna ($p < 0,05$). I skaktesterna var halterna av Ca och K något högre i lakvattnen då de minsta partikelfraktionerna lakats ($p < 0,05$), och för K kunde förhöjda halter konstateras redan vid partikelfraktioner <1 mm ($p < 0,05$). I pH-stattesterna observerades inga förhöjda halter av Ca med minskad partikelstorlek ($p > 0,05$). Utlakningen av Cl och SO₄ var i princip opåverkade av val av partikelstorlek. Värden under eller nära detektionsgränsen i dataunderlaget för Zn och Pb omöjliggör en statistisk analys.

Vidare kan det utifrån Figur 1 konstateras att val av lakmetod, skak- eller pH-stattest, påverkar halten i lakvattnet för ett antal ämnen. Halterna av Ca, Al, Cu och Pb (<1 mm) var större i skaktesterna än i pH-stattesterna ($p < 0,05$) medan halten SO₄ (<1 mm) var högre i pH-stattesterna ($p < 0,05$). Det som tekniskt skiljer de båda testerna åt är framförallt omrörningen och utbyte med omgivande luft. Omrörningen sker ”end-over-end” i skaktesterna och med hjälp av snurrloppa i pH-stattesterna. Vidare är skaktesterna slutna system medan ett visst utbyte med omgivande luft sker i pH-stattesterna. Detta kan påverka karbonatsystemet och pH genom utbyte mot koldioxid i atmosfären samt ge olika redox-förhållanden.

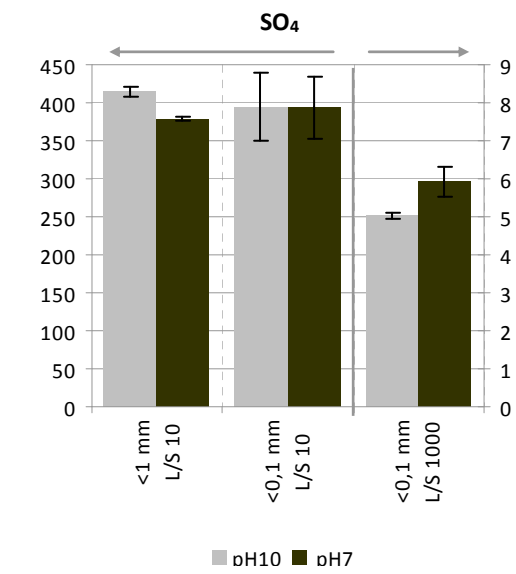
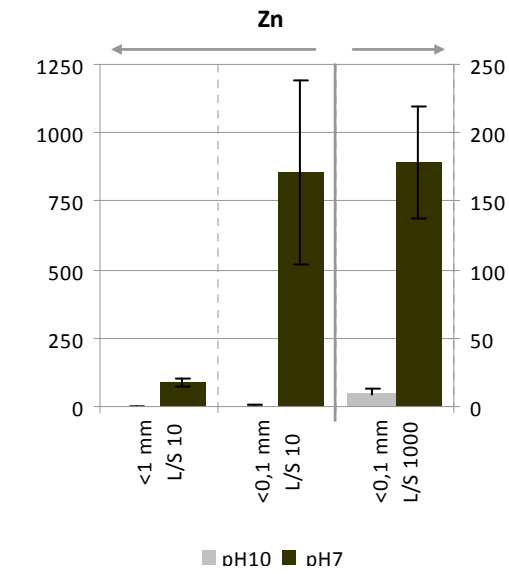
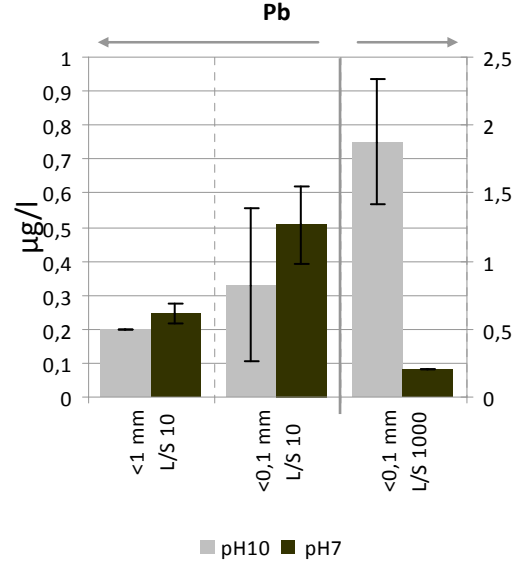
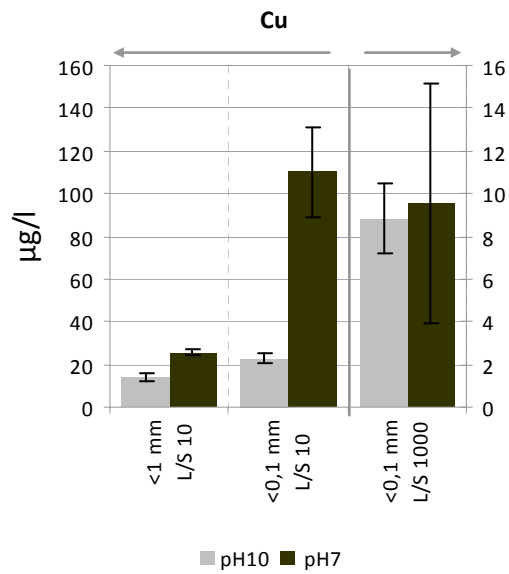
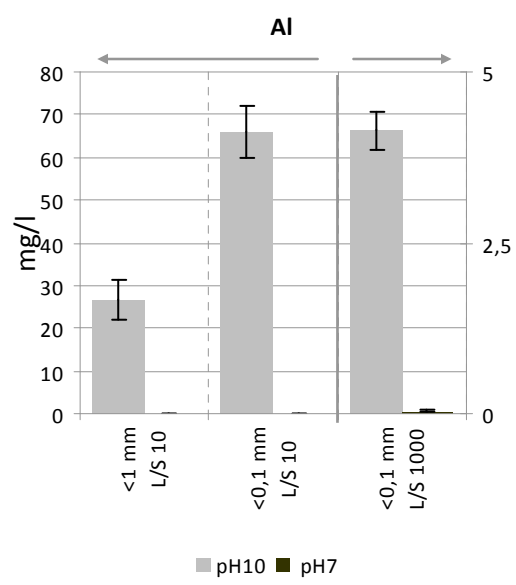
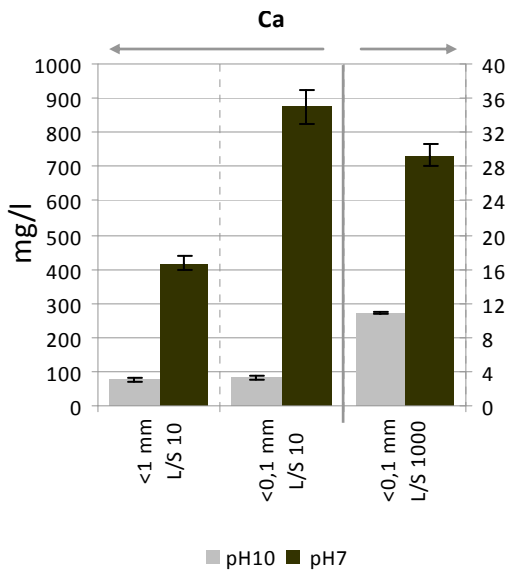
B.2 Inverkan av L/S

Vid askans naturliga pH var halten Ca, K, Al, Cu, och SO₄ lägre i lakvattnet vid lakning vid L/S 1000 än vid L/S 10 ($p < 0,05$). Halten Pb och Zn var emellertid högre i lakvattnet från laktesterna vid L/S 1000 ($p < 0,05$). Att halterna är högre vid L/S 1000 jämfört vid L/S 10 kan förefalla underligt men en förklaring är att lakning vid askans eget pH ger ett något lägre pH i lakvätskan vid L/S 1000 (pH 9,4-9,7) jämfört med lakning vid L/S 10 (pH 10-10,1).

Vid pH 7 var halten Ca, K, Cu, Pb, Zn och SO₄ lägre i lakvattnet vid lakning vid L/S 1000 än vid L/S 10 ($p < 0,05$). För Al kunde ingen skillnad i halt fastställas statistiskt mellan laktesterna utförda vid L/S 1000 respektive L/S 10 ($p > 0,05$).

Inverkan av pH vid lakning på halter av specifika ämnen i lakvattnet

Inverkan av pH vid lakning (pH 10 respektive 7) på halten i lakvattnet av var och ett av de ämnen som förväntas ha störst inverkan på lakvattnets toxicitet (Ca, Al, Cu, Pb och Zn) visas i Figur 2. Figuren visar även inverkan av pH på halten av SO₄ i lakvattnet.



Figur 2. Halt av Ca, Al, Cu, Pb, Zn och SO₄ för lakningar utförda med olika pH, L/S och partikelstorlek i pH-stattester. Staplarna visar medelvärden och felstaplarna standardavvikelser (n=3). Resultaten från lakningarna vid L/S 1000 visas på en sekundär axel.

Figure 2. Concentration of Ca, Al, Cu, Pb, Zn and SO₄ in leachate from leaching tests performed with different pH, L/S and particle size fractions in pH-static tests. The bars show means and the error bars standard deviations (n = 3). The results from the leaching tests performed at L/S 1000 are shown on a secondary axis.

Utlakningen av Ca och Zn ökade kraftigt då lakning utfördes vid pH 7 istället för vid pH 10 ($p < 0,05$) medan utlakningen av Al minskade kraftigt ($p < 0,05$). Detta är i överensstämmelse med vad man kan förvänta sig utifrån tidigare utförda geokemiska modelleringar på slaggruset (Värmeforsk 2009b). I dessa modeller är Al t.ex. som minst lösligt vid pH 6-7. Lösligheten ökar sedan vid ökat respektive minskat pH. Halten Cu i lakvattnet ökade också vid minskat pH ($p < 0,05$), men bara då lakningen utfördes vid L/S 10, och inte vid L/S 1000. Halten Pb minskade vid L/S 1000 men ökade något vid L/S 10 (vid <1 mm) med minskat pH ($p < 0,05$). Halten SO₄ i lakvattnet var relativt opåverkad av val av pH vid lakning även om några mindre skillnader kunde konstateras ($p < 0,05$) vid L/S 1000 och vid lakning av fraktioner <1 mm vid L/S 10 (se Figur 2).

Utifrån Figur 2 kan man konstatera att val av partikelstorlek har ännu större inverkan på utlakningen för ett flertal ämnen vid pH 7 än den hade vid pH 10 (jmf bilaga B.1). Halten i lakvattnet av både Ca, Cu, Pb och Zn var betydligt högre i lakvattnet vid lakning av partikelfraktioner <0,125 mm än vid lakning av fraktioner <1 mm vid pH 7 ($p < 0,05$).

C Kvalitetskontroll – kemiska analyser av testmedium från subkroniska tester

För att studera löslighetsproblematiken av Pb och Al mer i detalj analyserades testmedium från LDR-testen med dessa två element med avseende på oorganiska ämnen.

C.1 Kemiska analyser

Från tre av behandlingarna med Al och Pb i de subkroniska testerna med *N. spinipes* (se avsnitt 2.7.2) skickades vatten för kemisk analys till ALS Scandinavia. För vattnet från Al-behandlingarna gjordes samma analyser som för lakvattnen från lakttesterna (se avsnitt 0 Kemiska analyser). För vattnen från Pb-behandlingarna analyserades endast grundämnen. Vid uttag av prov för kemisk analys från testerna med Al användes ett samlingsprov från 3 dagar (d.v.s. 70 % av totala volymen av testmedium dag 2, 5 och vid avslut) för behandlingarna med 0,09 respektive 0,84 mg Al/l. För behandlingen med 7,56 mg Al/l användes ett samlingsprov från dag 2 och 5. Samtliga samlingsprov bestod av testmedium från alla 8 replikat per behandling. Behandlingarna med 0,09 och 0,86 mg Al/l analyserades kemiskt både före och efter filtrering. Vid uttag av prov för kemisk analys från testerna med Pb användes ett samlingsprov från 3 dagar (d.v.s. 70 % av totala volymen av testmedium dag 2, 5 och vid avslut) för behandlingarna med 0,03; 0,09 respektive 0,81 mg Pb/l som analyserade både före och efter filtrering. Proverna togs med stor försiktighet för att undvika partikulärt material på botten av kärnen. Proverna filtrerades vid ITM (sprutfilter Minisart (Sartorius) 0,45 µm med membran av hydrofil cellulosacetat) i direkt anslutning till avslut av respektive försök. Stamlösningen på 74,5 mg Pb/l, löst i MilliQ-vatten, analyserades också men filtrerades inte före analys.

Även kemiska analyser av Cu och Zn utfördes i denna studie men dessa gjordes vid ITM och endast för de aktuella elementen. Dessa resultat redovisas inte här men analyserna visade att de uppmätta koncentrationerna av båda elementen i samtliga behandlingar låg inom 80 % av de nominella koncentrationerna. I figurerna i avsnitt 3.4 i huvudtexten redovisas de nominella koncentrationerna. För K och Ca som är lösliga i vatten vid de testade koncentrationerna gjordes inga oorganiska analyser i samband med de ekotoxikologiska studierna.

C.2 Resultat och diskussion

I Tabell 1 redovisas analyserade element i testmedium från LDR-testerna med Pb och Al.

Tabell 1. Halter av grundämnen och anjoner i det testmedium (GF/C) som använts i de ekotoxikologiska testerna samt halter i vattenprover efter avslutade LDR-tester för bestämning av subkronisk toxicitet för Al och Pb. Tabellen visar även hur stor andel av tillsatt Al/Pb som återfanns vid analys av vattenproverna efter utförd toxicitetstest

Table 1. Concentrations of elements and anions in the test medium (GF / C) used in the ecotoxicological tests and concentrations in water samples from terminated LDR-tests for determination of subchronic toxicity of Al and Pb. The table also shows the proportion of added Al/Pb that was recovered in the analysis of the water samples.

Prov		GF/C (n=2)	GF/C	Al 1	Al 2	Al 3	Al 1a	Al 2a	Pb 1	Pb 2	Pb 3	Pb sam
Tillsatt ämne				Al ³⁺	Al ³⁺	Al ³⁺	Al ³⁺	Al ³⁺	Pb ²⁺	Pb ²⁺	Pb ²⁺	Pb ²⁺
Tillsatt mängd	µg/l			93,4	846	7560	93,4	846	30	90	810	74500
Filtrering		ofiltrerat	filtrerat	filtrerat	filtrerat	filtrerat	ofiltrerat	ofiltrerat	filtrerat	filtrerat	filtrerat	filtrerat
Ca	mg/l	96,8±4,1	89	103	105	98,5	98,3	101	115	106	107	<0,2
Fe	mg/l	0,0187±0,021	<0,004	0,0045	0,0051	<0,004	0,0066	0,0041	<0,004	<0,004	<0,004	<0,02
K	mg/l	74,7±10	70,2	88	81,9	82,6	83,6	79,5	85	76,7	78,7	<0,5
Mg	mg/l	237±15	224	259	258	248	246	246	279	257	260	<0,09
Na	mg/l	1980±71	1940	2090	2070	2140	2140	2110	2410	2190	2240	0,237
S	mg/l	188±11	185	203	208	205	204	209	230	204	208	<0,2
Al	µg/l	10,4±5,2	5,68	58	1040	1160	52	403	3,2	<2	<2	<20
As	µg/l	2,31±1,7	2,31	<2	<2	<2	<2	<2	3,37	2,2	<2	<10
Ba	µg/l	37,4±0,64	38,4	32,9	27,3	31,4	34,5	29,9	30	29	28,9	<2
Cd	µg/l	<0,05	<0,05	<0,05	<0,05	<0,05	<0,05	<0,05	<0,05	<0,05	<0,05	<0,5
Co	µg/l	0,09±0,057	<0,05	<0,05	<0,05	<0,05	0,0664	<0,05	<0,05	<0,05	0,0602	<0,5
Cr	µg/l	0,842±0,20	<0,5	0,512	<0,5	1,01	0,78	<0,5	<0,5	<0,5	<0,5	<5
Cu	µg/l	3,55±0,45	2,67	5,09	4,62	2,21	3,7	2,95	2,38	2,54	2,71	<10
Hg	µg/l	<0,02	<0,02	1,37	0,0836	0,226	0,543	0,0212	<0,02	<0,02	<0,02	<0,02
Mn	µg/l	1,59±1,3	2,5	0,972	2,31	1,56	1	1,99	1,54	1,29	1,33	<2
Ni	µg/l	7,14±1,8	5,86	4,91	5,25	3,15	5,66	4,47	3,78	3,68	3,64	<5
Pb	µg/l	0,24±0,057	<0,2	0,607	0,245	<0,2	0,878	0,209	11	30,6	506	70700
Zn	µg/l	14,1±2,2	12,8	12,5	15,2	3,41	15,5	7,45	11,7	11,5	13	11,5
DOC/TOC ^a	mg/l	4,48±1,5	3,48	8,66	5,27	4,25	20,2	3,87	–	–	–	–
Cl	mg/l	3915±728	4730	4740	5220	5220	5430	5430	–	–	–	–
F	mg/l	<1,50	<0,400	<0,400	<0,400	<0,400	<0,400	<0,400	–	–	–	–
SO ₄	mg/l	550±93	661	664	734	725	759	756	–	–	–	–
Andel Al/Pb av tillsatt mängd				66%	124%	15%	59%	48%	37%	34%	62%	95%

^a I de filtrerade proverna avses DOC och i de ofiltrerade TOC

Tabell 1 visar att för de flesta element förutom Al respektive Pb så var halterna relativt lika i de olika behandlingarna och kontrollerna (GF/C). Dock varierar halten av TOC tydligt där den högsta halten TOC uppmäts i ofiltrerat testmedium från behandlingen med 0,0934 Al mg/l. En förklaring till variationerna kan vara att när vatten med pipett sugits av från vattenpelaren i respektive testbägare, så har partiklar (mat, bakterier etc.) följt med, vilket påverkar den uppmätta TOC-halten. Metallerna, Cu, Zn, Pb och Al binder starkt till organiskt material vilket gör dem mindre biotillgängliga och toxiska. Hur stor denna bindning är påverkas av många olika faktorer varav en är det organiska materialets kvalitet. Ingen hänsyn till bindning till organiskt material har tagits vid beräkning av toxicitetsindex och farokvoter. Undersökning av askklakvattnens toxicitet i Värmeforsk (2009) och Avfall Sverige (2008 och 2009) och enskilda metaller toxicitet i föreliggande studie har genomförts under förhållanden som är likartade men skillnader i förekomst och kvalitet av organiskt material kan vara en faktor som påverkat den toxiska responsen.

Den aluminiumförening som användes för beredning av stamlösningar var av teknisk kvalitet vilket innebär en risk för att lösningen innehåller föroreningar i form av andra metaller. En indikation på detta finns i form av förhöjda kvicksilverhalter. Kontamineringen är emellertid så liten att den inte påverkar de genomförda toxicitetsförsöken. Den fria tillgängliga andelen Al minskar med ökande totalhalt tillsatt aluminium som en följd av bildning av aluminiumfällningar. Det finns också en tydlig tendens till att halten av metaller som kan sorbera på aluminiumfällningarna (t.ex. Zn, Cu, Pb, Hg) minskar i samma ordning. Ett prov uppvisar dock kraftigt avvikande resultat (Al 2). Den uppmätta fria tillgängliga halten Al i detta filtrerade prov översteg i det provet den tillsatta vilket tyder på ett stort analysfel (för enbart Al) eller att prov förväxlats. Om prov Al 1 och Al 1a samt prov Al2 samt Al2a får byta plats i tabell 1 erhålls en mer logisk andel av fritt Al. Al kan föreligga löst eller utfällt i många olika former där endast vissa former ger upphov till toxiska effekter. Den viktigaste kontrollerande faktorn för vilka former som förekommer och Al toxicitet är vattnets pH. Vid pH 6-9, där försöken genomfördes, förväntas det normalt inte att aluminiumjoner skall föreligga i halter eller former som är miljöfarliga (KemI 2011). Figur 7 i huvudtexten visar dock en tydlig dos-respons kurva där alla djuren i den högsta koncentrationen var döda medan cirka hälften levde vid en tillsatt mängd Al av 0,846 mg/l. En förklaring till den uppmätta toxiciteten kan vara att toxiska former av aluminium bildas och kvarstår under en övergångsperiod i samband med förändring av pH. Det är välkänt att Al under sådana förhållanden kan ge toxiska effekter (Poleo 1995, Alexopolus et al 2003, Teien et al 2006.) . LDR-testerna med Al i föreliggande studie genomfördes på liknande sätt som försöken med askklakvatten i Värmeforsk (2009) och Avfall Sverige (2008 och 2009), d.v.s. en stamlösning med hög halt löslig Al späddes (och för lakvattnet pH-justerades) varefter testet omedelbart påbörjades. Dessa kortvariga toxiska effekter kan givetvis försvåra för både faro- och riskbedömningar där höga halter Al föreligger i löst form, som t.ex. i lakvatten från askor med extrema pH i. I tester på sådana lakvatten kan aluminiumhalterna ge upphov till en toxisk respons trots att aluminiumjoner inte klassificeras som ett miljöfarligt ämne.

För Pb valdes tre av de testade koncentrationerna ut för oorganisk analys, dvs. 0,03, 0,09 och 0,81 mg/l. Tabell 1 visar att den uppmätta halten av Pb varierade mellan 34 och 62 % av den nominella men samtidigt på en tydligt ökad halt av Pb i de tre koncentrationerna. Även stamlösningen, som var gjort i MilliQ-vatten, analyserades och här var den uppmätta halten (70,7 mg/l) väldigt nära den nominella halten (74,5 mg/l). Skillnaden i uppmätt halt mellan 0,03 mg/l och 81 mg/l var cirka 50 gånger, mellan 0,03 och 0,09 mg/l cirka 3 gånger. Även Pb är svårslöslig i vatten vid aktuellt pH och gällande koncentrationer. Med mat (alger), salter och djur närvarande kompliceras bilden ytterligare, vilket inte minst visas av att den höga halten i stamlösningen överensstämde väl med nominell halt, medan det för de lägre halterna i testmedierna var mindre god överensstämmelse. Till viss del kan detta ha med analysmetodens mätosäkerhet att göra, men det förklarar långt från allt. Utifrån de uppmätta halterna skulle man förvänta sig en större skillnad i toxicitet i den högre jämfört med den lägre koncentrationen. En möjlig förklaring till utseendet av effektstaplarna i Figur 7 skulle kunna bero på just utfällning av Pb. En utfällning av Pb skulle nämligen medföra att de 10 djuren i varje testkärle inte exponeras för samma halt/koncentration av Pb. Dessa kräftdjur har vid visuell besiktning ett tydligt beteende där de håller sig fast vid utvalda partiklar, särskilt i de tidiga livsstadierna som inte är frisimmande. En hypotes är således att det inte är den fritt lösta fraktionen av Pb på omkring 0,5 mg/l (vilken uppmättes i den högsta koncentrationen, 0,81 mg/l) som gör att djuren dör. Dödligheten i denna koncentration av Pb var 34 % jämfört med 6 % i kontrollen, och de djur som dog gjorde så väldigt tidigt i försöket. Eftersom vi tillsätter cirka 10 djur till varje testkärle (totalt 8 per behandling och kontroll) och i medeltal drygt 3 djur dog tidigt i försöket av denna behandling betyder det att i medeltal 7 djur finns kvar i respektive replikat. Tittar vi på testvariabeln LDR (denna testvariabel beräknas som antalet copepoditer delat med totala antalet djur [nauplii + copepoditer] i slutet av försöket) och jämför staplarna för kontrollen och 0,81 mg/l Pb ser vi att 67 % av de kvarvarande djuren har utvecklats till copepoditer i Pb behandlingen, och att 61 % har utvecklats till copepoditer i kontrollen. De djur som överlevde den första tiden av exponering har alltså utvecklats i samma utsträckning i Pb-behandlingen som i kontrollen. Normalt sett brukar LDR vara en känsligare variabel än dödlighet, vilket ytterligare stärker vår hypotes att det är den utfällda fraktionen av Pb som står för toxiciteten. Precis som Al är Pb ett svårhanterligt element vilket har betydelse för tolkningar av undersökningar där Pb är inblandat.

Värmeforsk är ett organ för industrisamverkan inom värmeknisk forskning och utveckling. Forskningsprogrammet är tillämpningsinriktat och fokuseras på energi- och processindustriernas behov och problem.

Bakom Värmeforsk står följande huvudmän:

- Elforsk
- Svenska Fjärrvärmeföreningen
- Skogsindustrin
- Övrig industri

VÄRMEFORSK SAMARBETAR MED
STATENS ENERGIMYNDIGHET

VÄRMEFORSK SERVICE AB

101 53 Stockholm

Tel 08-677 25 80

Fax 08-677 25 35

www.varmeforsk.se

Beställning av trycksaker

Fax 08-677 25 35