

Askor - långsiktiga ekotoxikologiska miljörisiker

Magnus Breitholtz, Margareta Linde, Anja Enell och Ola Wik

Askor - långsiktiga ekotoxikologiska miljörisker

Ash – Long-term ecotoxicological risk to the environment

Magnus Breitholtz, Margareta Linde, Anja Enell och Ola Wik

Q9-754

Abstract

Resultaten från detta projekt visar att det utvalda åldrade slaggruset fortfarande innehöll en betydande mängd lösliga salter, men halterna i lakvätskan minskade tydligt från L/S 1 till L/S 3. Halterna av Ca, Al och Zn var stabila. Halten av Cu minskade med 50 % från L/S 1 till L/S 3. Resultaten visade också att DGT-analyserna fungerat väl för att följa förändringar i tillgänglighet för katjoniska metaller i lakvatten. Analyserna bekräftar misstankar från tidigare studier att huvuddelen av Al i asklakvatten vid pH 8 är kolloidalt och inte biotillgängligt. Analyserna visar vidare att metallers biotillgänglighet kan variera mellan olika L/S och när lakvattnet späds ut med spädningsmedium. Den ekotoxikologiska testningen visar att det framför allt är K som styr toxiciteten av de testade lakvattnen, medan tungmetaller har liten inverkan. Försöken med K spikat till lakvatten tyder på att de toxiska effekterna av K blir mer framträdande i närvaro av lakvatten, och att samverkans effekter med ämnen som finns i lakvattnet kan vara en trolig förklaring. Samtidigt står det klart att effekterna av K är subtila och framträder i form av långsammare larvutveckling.

Analogt med tidigare studier visar sammanfattningsvis resultaten från detta projekt att K dominerar de toxiska effekterna i lakvatten från askor och därmed är problematisk ur en klassificeringssynpunkt, men att de långsiktiga effekterna torde vara av ringa betydelse.

Sammanfattning

På initiativ av Naturvårdsverket har Institutionen för tillämpad miljövetenskap (ITM) vid Stockholms universitet tillsammans med Statens geotekniska institut (SGI) under 2007-2011 arbetat med att ta fram ett underlag till en framtida nationell vägledning för klassificering av farligt avfall enligt H-14 ska gå till. Projektet, som till stor del har finansierats av Värmeforsk, Svenska Energiaskor och Avfall Sverige, har fokuserat på att generera lakvatten från askor (slaggrus och flygaska) genom olika lakningsmetodiker och därefter både karaktärisera lakvattnet med avseende på kemiskt innehåll och ekotoxicitet (biotester med alg, kräftdjur och fisk). Resultaten från dessa projekt har bland annat visat på en tydlig skillnad mellan att indirekt uppskatta fara (utifrån totalhalter eller utlakade kemiska halter) och att direkt mäta fara med ekotoxikologiska tester hos komplexa lakvatten från avfall. Resultaten har även pekat på att lakvattnet från ett åldrat slaggrus har betydligt lägre toxisk potential än lakvattnet från ett färskt slaggrus. Detta kan bero på åldringsprocesser i materialet (t.ex. karbonatisering och hydratisering) som påverkar utlakningen av föroreningar från materialet och/eller på att det studerade åldrade slaggruset exponerats för regn och att lättlösliga toxiska ämnen därmed sköljts ur. En ytterligare intressant observation som gjorts i samband med dessa studier är att askornas innehåll av ämnen som vanligtvis inte klassas som toxiska, fram för allt kalium (K), kan ge upphov till så höga halter i asklakvatten att de kan förväntas orsaka en toxisk respons i de ekotoxikologiska testerna.

Syftet med det aktuella uppföljningsprojektet har således varit att studera hur ekotoxiciteten hos åldrade bottenaskor från avfallsförbränning minskar med ökad utlakning (dvs. stigande L/S) och om minskningen kan förklaras och verifieras genom kemiska analyser. Med ambitionen att förklara vilken/vilka komponenter som ligger till grund för observerad ekotoxicitet och att i förlängningen skapa förutsättningar för att resultaten skall kunna generaliseras till olika typer av askor valdes ett ca 5 år gammalt slaggrus från Tekniska Verken i Linköping ut som ett relevant studiematerial. Lakning utfördes som skaktest enligt SS-EN 12457-3, men sekventiellt i tre steg med ökat kumulativt L/S (1 till 3). Filtrerat lakvattnet delades upp för påföljande analyser; kemisk karakterisering av lakvatten, DGT-analys (på lakvatten från samtliga L/S samt på uttaget vatten från försök med L/S 3 spikat med koppar) samt ekotoxikologisk testning med ett subkroniskt larvutvecklingstest med kräftdjuret *Nitocra spinipes*. Ekotoxikologisk testning med samma metod utfördes även på den högsta koncentrationen (40,5%) av lakvatten vid L/S 3 spikade med antingen koppar eller kalium.

Resultaten visar att det åldrade slaggruset fortfarande innehöll en betydande mängd lättlösliga salter, men halterna i lakvätskan minskade tydligt från L/S 1 till L/S 3. Detta gäller främst Na, K och Cl som minskade med 75 %, 65 % respektive 90 %. Halterna av Ca, Al och Zn var stabila. Halten av Cu, som är viktigt med avseende på ekotoxikologiska effekter i lakvattnet, minskade med 50 % från L/S 1 till L/S 3. Resultaten visade också att DGT-analyserna fungerat väl för att följa förändringar i tillgänglighet för katjoniska metaller i lakvatten. Analyserna bekräftar misstankar från tidigare studier att huvuddelen av Al i asklakvatten vid pH 8 är kolloidalt och inte biotillgängligt. Analyserna visar vidare att metallers biotillgänglighet kan variera mellan

olika L/S (detta gäller främst Fe och Cr) och när lakvattnet späds ut med spädningsmedium (alla element utom Cd). Analogt med tidigare studier visar den ekotoxikologiska testningen att det framför allt är K som styr toxiciteten av de testade lakvattnen, medan tungmetaller har liten inverkan. Försöken med K spikat till lakvatten tyder på att de toxiska effekterna av K blir mer framträdande i närvaro av lakvatten, och att samverkans effekter med ämnen som finns i lakvattnet kan vara en trolig förklaring. Samtidigt står det klart att effekterna av K är subletala och framträder i form av långsammare larvutveckling. Eftersom halten av K är relaterad till salthalten och ett kräftdjur som *Nitocra* kan tåla salthalter i ett spann från nästan sötvatten till marina förhållanden, är det högst sannolikt att de effekter vi ser är relaterade till allokering av tillgängliga energiresurser för att hantera de förändrade miljöförhållandena som ökade halter av K medför. Detta betyder i sin tur att de långsiktiga effekterna (risken) av K är av mindre betydelse.

Subkronisk toxicitet av Cu påverkas inte i närvaro av lakvatten, vilket testades genom att Cu spikades till den högsta koncentrationen av L/S 3 lakvatten. Den troligaste förklaringen till små observerade skillnader mellan tester med och utan närvaro av lakvatten beror på variation i biotillgänglighet och/eller osäkerhet i mätmetoden. Samverkans effekter med andra ämnen i lakvattnet kunde inte identifieras.

Analogt med tidigare studier visar sammanfattningsvis resultaten från detta projekt att K dominerar de toxiska effekterna i lakvatten från askor och därmed är problematisk ur en klassificeringssynpunkt, men att de långsiktiga effekterna torde vara av ringa betydelse.

Executive Summary

1 Introduction

Incineration is the main disposal method of the complex mixture of goods and products that is phased out from the society and is not possible to recycle, and thereby has become an important and growing role as an energy source in response to reducing society's climate impact. However, incineration also leads to the production of ash and a rising concern of strategies for sustainable ash management. There are potential conflicts to the goal of reducing toxic pollution and recycling of materials triggered by energy and material efficiency targets. It is therefore important that legislations and guidance documents related to classification, landfilling and environmental risk assessment of ash and other waste streams are based on scientific data and principles.

Previous investigations made by ITM and SGI in the area of ash characterization have mainly focused on classification of ash. We have, for instance, shown that the current European proposal for classification of ash according to H14 does not follow chemical regulations in the area and may lead to misclassifications of ash when using leaching and subsequent ecotoxicity tests.

The investigations, primarily financed by Värmeforsk and Avfall Sverige, have generated a range of interesting findings related to hazardous properties of ash:

- The presence of organic substances is in general so low in ash eluates that classification of ash based on these substances is irrelevant. Measurement of total levels of heavy metals is an inadequate method for predicting inherent hazardous properties of ash, and diverges significantly from classifications based on either measurements of total levels in ash eluates or direct ecotoxicity testing of the eluates.
- Leaching of elements not classified as hazardous (K, Al och Ca) may have significant impact on the ecotoxicity of the ash eluates, which may in turn lead to a very conservative classification of, in particular, bio ash.
- Total levels of heavy metals in bottom ash are high and indicate significant hazardous properties. However, using ecotoxicity tests on eluates generated from aged bottom ash at L/S 10 shows very low toxic potential, as compared to fresh ash.

As a direct continuation of our earlier investigations on aged bottom ash, this project focused on characterizing a relevant aged bottom ash (ca. 5 years old) from incineration. As compared to earlier studies, where higher L/S ratios have been used, leaching was here performed using a sequential batch leaching approach from L/S 1 to L/S 3. Hence, the focus of the project has been on the long-term environmental risks of bottom ash. In more detail, our primary aim was to study if the ecotoxicity of aged

bottom ash eluates decreased with increasing L/S ratio, and whether this could be confirmed with chemical analysis.

Following the sequential leaching approach from L/S 1 to 3, eluates were i) tested with a subchronic ecotoxicity test with the harpacticoid copepod *Nitocra spinipes*, which has been the most robust and sensitive species in our previous studies on ash, ii) analyzed for total content of elements, and iii) analyzed with DGT filters to obtain bioavailable fractions of selected elements. The rationale for using a range of L/S ratios was that we wanted to observe changes in leaching behavior for specific components in the eluates and compare these changes to the toxic effects observed in the ecotoxicity test. To validate the outcome of these investigations, our final ambition was to spike the highest tested concentration of the eluate generated at L/S 3 with concentration series of the components identified as problematic. These spiked eluates were tested with the subchronic test with *N. spinipes* and the used test media were both analyzed for total content of elements and bioavailable fractions using DGT-filters.

2 Materials and Methods

Preparation of material and leaching method

The selected material for this study represents bottom ash generated in a modern incinerator. The material is a relatively young bottom ash (aged for five years). It originates from an incineration plant in Linköping, Sweden, and has been stored in an open pile outdoors for five years until the sampling occasion. The material is sufficiently aged for producing eluates with pH-values within an acceptable range for the ecotoxicity test. In addition, it contains moderate to low amounts of heavy metals and low amount of organic compounds.

The material was homogenized and divided into subsamples according to EN 15002:2006 applying coning and quartering to split the sample. Particles larger than 2 mm were sorted out by sieving the samples (without prior drying) following ISO 11464. This sample preparation is assumed to provide samples that better simulate real conditions compared to if the ash is crushed.

The leaching followed the procedure of EN 12457-3 (two stage batch test), but was modified to include three subsequently steps of leaching at cumulative liquid to solid (L/S) ratios of 1, 2 and 3 L/kg. In each leaching step the material was mixed with the leachant (MilliQ-water) to an L/S of 1 L/kg and agitated for 24h. The solid residue was thereafter separated by filtration (0.45µm membrane filters) and the generated eluate divided into subsamples for the following analysis (chemical element analysis, DGT-analysis and ecotoxicity tests).

The eluates were analysed for the following elements Ca, Fe, K, Mg, Na, Si, Al, As, Ba, Cd, Co, Cr, Cu, Mn, Mo, Ni, Pb, Sb, Se, V, Zn (mod. EPA-200.7 and EPA-200.8) and Hg (EN ISO 17852:2008), anions chloride, fluoride, sulphate (mod. EN ISO 10304-1 and EN ISO 10304-2) together with dissolved organic carbon (DOC) and total inorganic

carbon (TIC) (EN 1484). Samples for element analysis was stabilised with HNO₃ prior analysis. In addition, conductivity, temperature, redox potential and pH of the eluates were measure immediately after termination of each leaching step.

DGT-analysis

To perform speciation measurements of selected cations the technique of diffusive gradients in thin films (DGTs) was applied. The purpose of this test was to better characterise the labile concentration of metals in the eluates. By using the DGT-technique it is possible to assess the amount of “free” cations from the extent associated to the colloidal fraction of the water. This information could be very crucial when interpreting the results of ecotoxicity tests since metals associated with colloidal matter are not considered to be directly bioavailable to the test organisms.

In this study we applied the DGT-technique to our eluates generated at L/S 1, 2 and 3 to complement the chemical characterisation of these eluates and to the aqueous samples after the LDR-testing of increased concentrations of Cu (spiked tests).

Ecotoxicity testing

The Larval Development Ratio Test (LDR) is used to detect adverse effects on larval and juvenile development of the harpacticoid copepod *N. spinipes*. Copepod naupliar (larval) and copepodite (juvenile) stages are morphologically distinct and are therefore easily distinguished. The LDR endpoint (i.e. the ratio between the number of copepodites and total number of living animals at the end of the test) is recorded, together with mortality, after 5-7 days when ~ 50 % of the control animals have reached a copepodite stage.

This test was applied to eluates generated at L/S 1-3 as well as the highest concentration of the eluate generated at L/S 3, spiked with either Cu or K. Cu was tested at the following nominal concentration: 60, 120 and 240 µg/L, whereas K at 35, 105 and 315 mg/L. These concentrations correspond to concentrations used in earlier tests with the same species, but dissolved in natural brackish water.

In order to use test fresh samples, all LDR-tests were started as soon as possible after the eluates had been sampled (i.e. all tests started within 48h after their production). Eluates were stored in dark at 4° until start.

3 Results and Discussion

Leaching

Results of measured validation parameters (pH, conductivity and redox potential) in eluates at accumulated L/S of 1, 2 and 3 [L/kg] showed high precision (i.e. acceptable repeatability of the method), with a stabile pH of 8.0-8.1 and a decreasing conductivity (from 803 to 373 mS/m), see Table 7 in the Swedish version of the report. The stabile pH indicates that the material has been well aged during the storing and that hydroxides have been converted to carbonates due to the exposure to air (CO₂).

The leached concentrations of elements at the L/S ratios studied are shown in Table 8. The results are shown as means together with the repeatability (relative standard deviation expressed as a percentage). All individual test-results can be found in the compilation of data *Underlag till Q-754* that is stored by Värmeforsk. All studied element showed a high precision; the standard deviation was in general lower or equal to the analytical error of the individual elements. The ash contained a considerable amount of salts with high solubility, shown by the initial high concentrations of e.g. Na, K and Cl. However, the concentrations declined with increased leaching; from L/S 1 to L/S 3 the concentration of Na, K and Cl was reduced by 75 %, 65 % and 90%, respectively.

The concentration of Ca, Al and Zn was stable during all studied L/S-ratios, while the concentration of Cu, which is an element of major importance for the ecotoxicity, was reduced by 50% from L/S 1 to L/S 3. The copper complex binds strongly to organic matter and leaching of copper from ash materials is known to be related to the concentration of DOC (Värmeforsk, 2006). In this study, the concentration of DOC decreased simultaneously with decreasing copper concentration (approx. 35% from L/S 1 to L/S 3).

A toxicity index (TI) was calculated for all elements of major concern (i.e. elements that in previous studies by the authors (Värmeforsk, 2009; 2011) have been identified as important contributors to toxic effects). The TI is defined as the ratio between the concentration of the tested eluate (the highest concentration measured in the studied eluates was here used) and the concentration of NOEC (No Observed Effect Concentration). Calculated TI's are shown in Table 9 in the Swedish version of the report.

If TI is close to, or exceeds the value 1, it indicates that the substance may cause toxic effects. TI has been calculated according to Equation 3, where it is possible to take into account the background concentration in the solvent medium used in the ecotoxicological tests.

$$TI = \frac{([Eluate] - [Solvent_medium]) \times dissolution}{NOEC} \quad (3)$$

The TI's of Pb and Zn in studied eluates were very low and their contribution to toxic effects detected in an LDR-test can thus be regarded as insignificant (see Table 9 in the Swedish version of the report). Calculated TI's for Ca and Al are close to 1 and stable for all studied eluates and thus indicates a risk of toxic effects. However, the used NOEC-value for Al is derived for a reactive form of aluminum, which exists in highly alkaline leachate (Värmeforsk, 2011). It is well known that aluminum do not cause any toxic effects at pH 8 and the here calculated TI for Al is therefore misleading. In addition, this was also confirmed by testing with DGT (see section 3.2) which showed that Al had very low bioavailability at the prevailing pH (pH=8). The obtained TI for K exceeded 1 for L/S 1, but at higher L/S the concentration declined to well below the levels where the index indicates a potential for toxic effects. Estimated TI for Cu

indicated no significant risk of toxicity and the value of the index significantly declined from the L/S 1 to L/S 3.

DGT-analysis

The precision of the DGT-measurements appears to be very good when the DGT-samplers were exposed to the same eluate (data for L/S 2, see Table 10 in the Swedish version of the report). Also when the samplers were exposed to eluate from two separate eluate replicates (data for L/S 1) the precision is good. However, for Fe, Cr and Pb the precision is in the latter case not so good. An explanation for this may be that these elements were present at labile concentrations close to the detection limit of the method. Overall, the number of replicates are however too low for judging the precision for individual elements.

For Fe and Cr, the labile concentrations and the fractions of the measured total concentrations increase from L/S 1 to L/S 3. Also for the other selected elements there is a variation, but the changes are less pronounced as compared to Fe and Cr. For Al and Ba, the labile concentrations and the fractions of the measured total concentrations are very low and stable over the L/S range. Aluminium is not expected to bind to humic substances and the low labile fractions confirm earlier indications that Al measured in eluates from aged bottom ash at pH 8-9 are mainly present as colloids and are hence not bioavailable. As a consequence, the ecotoxicological potential of Al may be strongly over-estimated at natural pH if the level of Al is measured with traditional chemical analysis of ash eluates after filtration (0.45 µm).

For Fe and Cd, the labile fractions of the measured total concentration are above 100%. This can be explained by the fact that the current DGT-analysis both up-concentrates the analytes and lowers concentrations of certain components (i.e. chloride), which in turn increases the precision of the method.

The analysed concentrations of Cu in the spiked ecotoxicity test are well below the nominal concentrations. Considering that the eluate contained Cu the losses are 23 %, 34 % and 33 % at 60, 120 and 240 µg/L, respectively. Since the test beakers were not conditioned before exposure, this is not unexpected for this test system and we have experienced similar losses in earlier experiments with Cu.

The analyzed concentrations of Al in test solution are considerably lower as compared to the eluate. This is particularly evident for the samples spiked with Cu (see Table 11 in the Swedish version of the report). However, the labile concentrations of Al are somewhat higher than in the eluate, which results in that the labile fraction of Al is high in the test solution as compared to the eluate (see Table 12 in the Swedish version of the report).

In general, the labile fractions of the selected elements are similar in the test solutions that have been spiked with copper (Table 12 in the Swedish version of the report). This is true also for Cu, for which the labile fraction only varies between 38 % and 45 %, although the measured total concentrations ranged from 58 to 178 mg/L. Except for Cd,

the test solution without copper (i.e. control medium) shows systematically lower labile concentrations and fractions of the measured total concentration as compared to the test solutions spiked with Cu. Also the eluate (L/S 3 100 %) without addition of dilution media (i.e. natural brackish water) differs in labile fractions from both spiked and non-spiked test solutions.

The analysis of DGT-samplers shows that labile concentrations and thus very likely also bioavailable fractions of different elements vary in different media. For Cu, which is one of the critical elements from an ecotoxicological point of view, the observed variation in labile fractions is relatively limited, ranging from 24 % to 45 %, but is still of such a magnitude that it could inflict on the bioavailability of the element in ecotoxicological tests.

The concentrations of Pb and Cd in test solution, in particular in the spiked test solutions, are elevated as compared to the concentrations in the eluate (see Table 11 in the Swedish version of the report). The same is true for Ni, although to a lesser extent. As there is no relation between added and measured concentrations of copper, it is highly unlikely that this contamination is related to the spiking procedure. Instead, the most plausible explanation is contamination of samples at ecotoxicological testing, possible in relation to the exposure using DGT-samplers. Nevertheless, the measured concentrations are far below levels where toxicity to *N. spinipes* is to be expected.

Overall, based on the findings from the present study, the use of DGT-samplers in small-scale laboratory experiments seem to function well to trace changes in availability of cationic elements, and can be used to unravel mechanisms important for understanding observed toxic responses of complex pollution matrices, such as ash eluates.

Ecotoxicological testing

The results from the ecotoxicological testing of the eluates generated at L/S 1-3 are shown in Figure 2 in the Swedish version of the report. The only significant difference from a control group was on larval development in copepods exposed to the highest concentration (i.e. 40.5%) of the eluate generated at L/S 1. For all eluates the control mortality was well below 20%, which is the acceptable level for this test. This shows that the component(s) responsible for the significant effect at L/S 1 act on larval development and do not cause any increased mortality.

The calculated TI values in Table 9 in the Swedish version of the report indicate that there are four elements that could be responsible for the significant effects on larval development in the highest concentration of the L/S 3 eluate, namely Ca, Al, Cu and K. However, the DGT-analysis shows that the bioavailability of Al is very low, and it is therefore unlikely that Al can explain the observed changes in toxicity from L/S 1 to 3. For Ca, on the other hand, the calculated TI values indicate that Ca is present at levels which should induce toxicity at all L/S ratios. However, these findings do not corroborate the findings of the toxicity of the eluates when exposed to *N. spinipes*. For Cu, none of the calculated TI values were above 1 but considering natural biological variation and that the TI value in the L/S 1 eluate was 0.56, the potential toxic

contribution from copper cannot be neglected. Still, the element for which the toxicity trend over the full L/S range best supports the calculated TI values is K.

The highest concentration of the eluate generated at L/S 3 was therefore spiked with known and previously tested concentrations of K. In Figure 3 in the Swedish version of the report, we have compiled mortality and larval development responses from both the spiked eluates in this study and the previous test where K was diluted in natural brackish water, which was also used as control and dilution media in this study. The figure clearly shows that, by slightly increasing the concentration of K in the L/S 3 eluate, larval development decreases, whereas mortality is unaffected. Interestingly, the concentration-response curves for the two experiments are almost identical for both mortality and larval development. As compared to the test with K dissolved in brackish water only, the LOEC (Lowest Observed Effect Concentration) is lower (35 mg/L instead of 105 mg/L) when K is dissolved in the L/S 3 eluate, which in itself was not toxic. However, the LOEC value for mortality was unaffected. Since the only significant observation on the eluates generated at L/S 1-3 was on larval development, this further supports the indication that K is responsible for the changes in toxicity from L/S 1 to 3. The background concentrations of K in the natural brackish water normally used as control and dilution media for this subchronic test with *N. spinipes* is in the range 70-80 mg/l, whereas the concentration in the L/S 3 eluate was 77 mg/L. Since K is expected to be bioavailable independent of dilution media, differing background concentration can thus not explain the increased toxicity of K when dissolved in the eluate. Instead, the most likely reason for the increased toxicity is that other components present in the eluate contribute with toxicity. Although K seems to be responsible for the chief part of the toxicity, our observations indicate that the observed responses are in fact due to a cocktail effect.

Both our previous study related to chemical and ecotoxicological characterization of ash materials as well as the present study, indicate that K is the most important toxic component in a range of Swedish ash materials. Clearly, rapidly changing concentrations of K affect critical developmental stages of the crustacean *N. spinipes*. Other scientific studies have shown that K is toxic to aquatic organisms and a reason for this sensitivity among aquatic organisms may be that K, which is important for establishing a correct ion balance but is also involved in critical physiological processes, is normally found at stable concentrations and organisms have evolved to cope with these prevailing conditions. Although, as shown in this study, the development of *N. spinipes* is negatively affected by exposure to relatively low levels of K, there are few reasons to suspect that these levels will cause long-term risks in the environment. This species is well-known to cope with drastic fluctuations (i.e. from almost freshwater to marine conditions) in salinity and since K is strongly correlated to the salinity, the reduced development ratios indicate that the animals were allocating their energy resources for coping with this extra stress. The relatively short exposure time of 6-7 days was hence too short a time for the animals to acclimatize to the new conditions. At the same time, it is clear that mortality was not affected at the same level as development.

As mentioned above and in Table 9 in the Swedish version of the report, copper did not have a calculated TI value above 1 for any of the three eluates generated at L/S 1-3. Still, since the TI in the L/S 1 eluate was 0.56 and the TI values in the subsequent eluates decreased and since copper is known to be toxic in aquatic organisms, we chose to spike the highest concentration of the eluate generated at L/S 3 with this element. In Figure 4 in the Swedish version of the report, we have compiled mortality and larval development responses from both the spiked eluates in this study and the previous test where the same concentrations were diluted in the same natural brackish water as in this study. Since the eluate already contained elevated levels of copper, the actual nominal concentrations were 75, 135 and 255 µg/L at 40.5% of the L/S 3 eluate. The figure shows distinct and concentration-related responses on larval development, with significant effects already at the lowest tested concentration. For mortality, only the highest concentration resulted in a significantly different response compared to the control. At this concentration, 20 out of 80 nauplia the experiment was initiated with survived, but none of these larvae reached metamorphosis and a copepodite stage. Using the same test method but with copper dissolved in brackish water (at 30-480 µg/L), the corresponding responses were significant at higher concentrations of copper; ≥ 120 µg/L for on larval development and ≥ 480 µg/L for mortality. Still, the two tests – i.e. with copper dissolved in either natural brackish water or 40.5% of L/S 3 eluate – have very similar concentration-response relationships. With consideration to natural biological variation and that the concentration of copper was somewhat higher in the eluate as compared to the test solution in Stiernström et al. (in preparation), the results seem relevant. One factor that may contribute to the differences that were still observed is variation in bioavailability. The DGT-measurements indicate that the bioavailability may differ by a factor 2 between subsequent measurements. It has also been shown that the speciation of copper at pH 8, copper binds less strongly to leached humic substances in ash eluates as compared to in ground water. At the same time, the binding of copper to organic substances is stronger in brackish water from the Baltic Sea as compared to the binding of organic substances originating from freshwater. Hence, by adding brackish water dilution media to the eluate could slightly have increased the bioavailability of copper. Even though changes in bioavailability seems like a logical explanation for the small differences in toxicity between the two LDR-tests, we cannot rule out the possibility that also for copper the presence of other substances is important, and that our observations are hence the result of a cocktail effect.

4 Conclusion

Similar to our earlier chemical and ecotoxicological investigations of ash, the findings from the present study show that K is dominating the toxicity of ash eluates. However, since the effects triggered by K in the crustacean *N. spinipes* are not lethal but rather related to difficulties to acclimatize to rapidly changing conditions, long-term environmental risks of K for this species are negligible. For characterization of ash, the toxic potential of K, however, remains problematic.

Innehållsförteckning

1	INLEDNING	1
1.1	BAKGRUND	1
1.2	BESKRIVNING AV FORSKNINGSSOMRÅDET	2
1.3	FORSKNINGSUPPGIFTEN OCH DESS ROLL INOM FORSKNINGSSOMRÅDET	3
1.4	MÅL OCH MÅLGRUPP	4
2	MATERIAL OCH METODER.....	6
2.1	VAL AV MATERIAL	6
2.2	PROVBEREDNING AV MATERIAL	6
2.3	KEMISK KARAKTERISERING AV MATERIAL.....	7
2.4	LAKTEST	8
2.5	DGT-ANALYSER	9
2.6	EKOTOXIKOLOGISKA TESTER	12
3	RESULTAT OCH DISKUSSION.....	14
3.1	LAKNING	14
3.2	ANALYSER AV LAKVATTEN MED DGT-PROVTAGARE	16
3.3	ANALYSER AV TOXICITETSTEST MED DGT-PROVTAGARE	18
3.4	EKOTOXIKOLOGISKA TESTER	20
4	SLUTSATSER.....	25
5	REKOMMENDATIONER OCH ANVÄNDNING	26
6	FÖRSLAG TILL FORTSATT FORSKNINGSPÅRBEJTE	27
7	LITTERATURREFERENSER.....	28

Bilagor

A VALIDITETSPARAMETRAR EKOTOXIKOLOGISK TESTNING OCH EFTERFÖLJANDE DGT-ANALYS

1 Inledning

Under 2007 initierade Naturvårdsverket en diskussion rörande förutsättningarna för att använda ekotoxikologiska test för att klassificera farligt avfall. Därigenom inleddes ett samarbete mellan Institutionen för tillämpad miljövetenskap vid Stockholms Universitet (ITM) och Statens geotekniska institut (SGI). Under perioden 2007-2011 genomfördes, med stöd av Värmeforsk, Avfall Sverige och Svenska Energiaskor, ett antal projekt för att studera utlakning av toxiska ämnen från askor och karakterisera dessa eluat med biotester [1-4].

Som en följd av resultat som tidigare erhållits på åldrade bottenaskor från avfallsförbränning (slaggrus), utarbetades föreliggande projekt där toxiciteten hos ett väl åldrat slaggrus karakteriserats med biotest på lakvatten. Lakvattnen har till skillnad mot tidigare studier genererats vid förhållanden då mängden lakvatten i relation till mängden aska varit låg (L/S 3 och lägre). Projektet har därmed haft en tydlig inriktning mot bedömning av miljörisker av slaggrus istället för mot klassificering av miljöfarlighet.

Även om resultaten från tidigare genomförda studier har haft som huvudsyfte att ta fram en vägledning för klassificering av askor har flera av resultaten och slutsatserna visat på aspekter som kan vara av betydelse för hantering av askor ur ett mer långsiktigt perspektiv. Huvudsyftet med det aktuella uppföljningsprojektet har således varit att studera hur ekotoxiciteten hos askor avklingar med ökad utlakning (dvs. stigande L/S) och hur denna avklingning kan verifieras med kemiska analyser.

1.1 Bakgrund

De undersökningar som ITM och SGI tidigare genomfört har huvudsakligen haft en inriktning mot klassificering av askors inneboende fara enligt avfallsdirektivet och förordningen om avfall. Vi har kunnat visa att det huvudförslag till metodik för klassificering [5], som utarbetats och förts fram i det pågående arbetet med att harmonisera klassificeringen av avfall i Europa, inte följer lagstiftningen samt har allvarliga brister och riskerar ge en felaktig klassificering både med hänsyn till valda lakmetoder och biotester.

Undersökningarna har genererat en mängd nya data när det gäller miljöfarlighet hos askor, utifrån vilka ett flertal viktiga slutsatser har kunnat dras:

- Förekomsten av organiska ämnen i askor är generellt så låg att den inte föranleder en klassning av askor som farligt avfall. Totalhalt av tungmetaller är ett bristfälligt underlag för klassificering av askors inneboende miljöfarliga egenskaper och skiljer sig tydligt från resultat som erhålls vid biotester av askorna eller då hänsyn tas till lakbarhet.
- Askornas utlakning av ämnen som inte klassas som miljöfarliga (K, Al och Ca) ger upphov till så höga halter i lakvattnet att de ofta dominerar den toxiska

responsen i biotesterna. Om inte hänsyn tas till detta kommer en klassning baserat på biotester leda till att askorna klassas som farliga i högre grad än vad de i realiteten är. Effekten är speciellt framträdande för bioaskor.

Totalhalten av tungmetaller i bottenaskor från avfallsförbränning (slaggrus) är hög och indikerar en betydande inneboende fara. Vid biotester av lakvatten som framställts vid L/S 10 uppvisar dock slaggrus som åldrats låg toxisk potential till skillnad från färska slaggrus.

1.2 Beskrivning av forskningsområdet

Basen för den kunskap vi idag har om miljörisker med olika ämnen bygger på resultat från biotester där de ekotoxikologiska egenskaperna kvantifierats. Data från biotester utgör grunden för klassificering av miljöfarlighet och miljöriskbedömningar i kemikalielagstiftningen (REACH och CLP). Vatten är en viktig vektor för transport av förorenade ämnen och akvatiska biotest är därför centrala i all riskbedömning och utgör det enda underlag på vilket man idag kan klassificera ett ämnes miljöfarlighet. Biotester delas in i tester som kvantifierar de kortsiktiga toxiska egenskaperna, akuta toxicitetstest, och test som kvantifierar även de långsiktiga toxiska egenskaperna, kroniska test. Kroniska biotest är viktiga för att kunna identifiera den nivå vid vilket ett ämne inte förväntas ge upphov till negativa effekter i miljön. Viktiga tillkommande parametrar vid bedömning av miljöfarlighet, framför allt då det endast finns data på akut toxicitet, är ämnens stabilitet i miljön och bioackumuleringsförmåga.

I en traditionell riskbedömning har man ofta riskbedömt varje ämne i taget, utan hänsyn till den samverkan olika ämnen kan ha på varandras toxicitet. Idag lyfter man allt mer fram behovet att ta hänsyn till samverkande effekter. I det sammanhanget utgör biotester ett verktyg som är svårt att helt ersätta även om flera förenklade modeller baserade på toxicitet hos enskilda ämnen har föreslagits och använts för att ta hänsyn till samverkande effekter.

Askor har en komplex och till stor del okänd sammansättning av både ofarliga och miljöfarliga ämnen. Varje enskilt grundämne (t.ex. Cu) förekommer i allmänhet i flera olika former med olika farlighet. Nyproducerade askor är dessutom reaktiva material och sammansättningen och egenskaperna hos en aska ändras med tiden då den åldras (karbonatisering och hydratisering). För så komplexa blandningar som askor är det svårt att tillämpa förenklade modeller som beskriver samverkande toxiska effekter. Det är dessutom mycket svårt att skatta stabilitet i miljön och bioackumuleringsförmåga. Kroniska biotester utgör därför ett viktigt instrument för att karakterisera de ekotoxikologiska egenskaperna hos askor. Det är dock alltid viktigt att komplettera toxicitetstest med en förståelse för vilka mekanismer som bidrar till toxiciteten för att kunna prognostisera risken under andra förutsättningar.

Även om man i samband med den pågående harmoniseringen inom EU av bedömningsgrunder för klassificering av farligt avfall lyft fram betydelsen av biotester som underlag för klassificering av miljöfarlighet finns idag relativt få data för toxiciteten i lakvatten från askor speciellt när det gäller kroniska biotest.

1.3 Forskningsuppgiften och dess roll inom forskningsområdet

Resultat från tidigare försök har pekat på att lakvattnet från ett åldrat slaggrus har betydligt lägre toxisk potential än lakvattnet från ett färskt slaggrus, vilket kan bero på åldringsprocesser i materialet (t.ex. karbonatisering och hydratisering) som påverkar utlakningen och biotillgänglighet av föroreningar från materialet och/eller på att det studerade åldrade slaggruset exponerats för regn och att lösliga toxiska ämnen därmed sköljts ur.

Som en följd av dessa tidigare resultat kontaktades ITM och SGI under 2010 av Svenska Energiaskor, som framförde önskemål om att utarbeta ett projektförslag för fördjupade studier av de långsiktiga ekotoxikologiska riskerna med askor. I uppdraget ingick att projektgruppen i samråd med referensgruppen valde ut ett åldrat slaggrus för sekventiell lakning med skaktest vid olika L/S förhållanden samt testning med avseende på subkronisk toxicitet hos kräftdjuret *Nitocra spinipes*, som är den testorganism i tidigare studier som varit känsligast och visat sig fungera väl för studier av lakvatten med både hög och låg salinitet. För att kunna förklara mekanismer bakom toxikologisk respons karakteriserades lakvattnen kemiskt samt med passiva DGT-provtagare.

Tanken var initialt att lakning skulle ske i spannet L/S 0,5-100 men resultaten från projektet visade tidigt att detta inte var nödvändigt, och projektgruppen valde i samråd med referensgruppen att avsluta den sekventiella lakningen redan vid L/S 3. En anledning till detta var att de genererade lakvattnen redan tidigt uppvisade mycket låg och minskande toxicitet. Vid L/S 3 kunde inte någon toxicitet registreras. Ytterligare försök vid ökande L/S tal skulle därmed inte tillföra någon information om mekanismer bakom den potentiella toxiciteten från askor. Istället genomfördes kompletterande försök med tillsatser av koppar och kalium, som var de ämnen som bedömdes som mest kritiska med avseende på toxisk effekt. Dessa ämnen tillsattes till toxicitetsförsök med lakvatten från L/S 3 (dvs. den högst testade koncentrationen, 40,5 % lakvatten) för att bekräfta att det förelåg ett tydligt samband mellan koncentration och respons.

Analogt med tidigare studier var ambitionen att fokusera på att förklara vilken/vilka komponenter som ligger till grund för den observerade toxiciteten för att skapa förutsättningar för att resultaten skall kunna generaliseras till olika typer av askor. Genom att identifiera toxiska komponenter och hur riskerna med dessa minskar vid ökad ursköljning skulle bättre riskbedömningar kunna göras och leda till att slaggrus och andra askor kan användas som konstruktionsmaterial eller i andra tillämpningar.

Metallers toxicitet i vattenlösningar är i högsta grad beroende av vattenlösningens sammansättning och vilka komplexbildande reaktioner som kan ske. Då metaller kan vara starkt komplexbundna eller adsorberade till t.ex. partiklar i lösningen kan den biotillgängliga halten vara betydligt lägre än den uppmätta lösta halten efter filtrering. Passiva provtagare, s.k. DGT-provtagare, har visat sig kunna förbättra förutsättningarna att prediktera biotillgänglighet och toxiciteten hos katjoniska metaller [6-7]. Genom att använda DGT-provtagare kan bidraget från partikelbundna och starkt komplexbundna metaller uteslutas och därmed erhålls ett analysresultat som bättre korrelerar med

metallernas verkliga tillgänglighet för biota. DGT-provtagaren PS-Metal, som använts i föreliggande studie, är speciellt utvecklad för katjoner. Under provtagningen i vattenlösningen diffunderar metalljonerna som är lösta i vattnet genom provtagaren för att sedan ackumuleras i en jonbytargel. För metaller som är reversibelt komplexbundna till organiska komplex som humusämnen sker motsvarande transport även av de komplexbundna metallerna. Diffusionen sker emellertid långsammare för de komplexbundna metallerna på grund av att humusämnen diffunderas långsammare än lösta metaller. Ju längre den passiva provtagaren är i kontakt med vattenlösningen desto större mängd av joner ackumuleras. Bestämningen av den så kallade DGT-labila halten av metaller i vattenprovet beräknas efter avslutad provtagning genom att utnyttja förutbestämda diffusionskoefficienter för de enskilda metallerna samt medeltemperaturen och tiden för provtagningen, enligt ekvation 1:

$$C=(M*\Delta g)/(D*A*t) \quad (1)$$

där M är ackumulerad massa, Δg är tjockleken på diffusionslagret (0,09 cm), D är diffusionskoefficienten vid en bestämd temperatur, A är arean på ”filter-fönstret” som är exponerat mot omgivande lösning (3,14 cm²) och t är tiden.

För metaller som är komplexbundna till humusämnen kan den effektiva diffusiviteten beräknas enligt ekvation 2:

$$D=D_{fri}(F_{fri}+F_H*f_H) \quad (2)$$

där D är den sammanlagda effektiva diffusionen, D_{fri} är diffusionskoefficienten för den icke komplexbundna metallen, F_{fri} är andelen av metallen som inte är bunden till humusämnen, F_H är andelen av metallen som är bunden till humusämnen och f_H är en faktor som anger hur mycket långsammare diffusionen sker för humus.

Diffusionskoefficienten för humusämnen är en faktor 0,7-0,4 av diffusionshastigheten för fria metaller vilket betyder att en stor andel av metallen måste vara bunden till humus för att den ackumulerade mängden i DGT-provtagare skall påverkas.

Provtagare av typen PS-metal är väldokumenterad när det gäller att mäta och speciera halten av katjoniska metaller i brackvatten från Östersjön [8-9]. Den bör därför fungera väl även i lakvatten från åldrat slaggrus som har en sammansättning som liknar brackvatten från Östersjön. DGT-provtagare har enligt vår erfarenhet aldrig tidigare använts för att karakterisera lakvatten från askor.

1.4 Mål och målgrupp

Det övergripande målet med projektet var att beskriva mekanismer för hur ökad ursköljning (dvs. stigande L/S) påverkar risken för ekotoxikologiska effekter om en aska (t.ex. slaggrus) sprider lakvatten till omgivningen, antingen när den deponeras, eller när den används som konstruktionsmaterial i t.ex. vägar och deponier.

Syftet är att utveckla kunskapen om askors ekotoxikologiska miljöegenskaper och hur dessa kan förändras över tiden och att sprida denna kunskap till myndigheter, lagstiftare, forskare och askproducenter.

2 Material och metoder

2.1 Val av material

Val av försöksmaterial har gjorts i samråd med referensgruppen och samordnats med ett parallellt pågående projekt: *Bioackumulering i vegetation på geotekniska askkonstruktioner* (Värmeforsk projekt Q9-745).

Eftersom detta projekt har haft som huvudsyfte att ta fram underlag för riskbedömning valde projektgruppen bland de material som studerats i Värmeforsk projekt Q9-745 ett ca 5 år gammalt slaggrus från Tekniska Verken i Linköping som relevant studiematerial. Slaggruset som producerats vid Gärstadverkets förbränningsanläggning i Linköping togs i juni 2010 med spade från en mindre hög som legat öppet exponerad i ca 5 år på Gärstadverkets avfallsanläggning (se Figur 1). Det uttagna provmaterialet har därefter förvarats i förslutet kärl i kylrum ($4\pm 2^\circ$ C) hos SGI fram till undersökningstillfället.



Figur 1. Provtagning av slaggrus från Tekniska Verken, Linköping, i juni 2010.

Figure 1. Sampling of material from Tekniska Verken, Linköping, June 2010.

Det valda materialet var, utifrån ett större urval av tänkbara alternativ, det som bäst representerar dagens producerade slaggrus i förhållande till övriga äldre askor. Materialet är också tillräckligt åldrat för att inte pH skall störa de toxikologiska studierna. I jämförelse med urvalet av övriga askor i Värmeforsk projekt Q9-745 uppvisade det valda slaggruset högst toxisk potential med en kombination av både lösliga och svårslösliga ämnen. Materialet är representativt för en aska producerad vid en nutida förbränningsanläggning.

2.2 Provberedning av material

Materialet homogeniserades och delades ned enligt EN 15002:2006 (kon/kvadrering) till delprov varefter partiklar större än 2 mm sorterades bort genom siktning enligt en standard för jordprovberedning, SS-ISO 11464. Proverna torkades inte innan provberedning.

Denna hantering antas ge upphov till ett prov som är mer realistiskt än om askan krossas mot bakgrund av hur hantering av materialet sker under verkliga förhållanden och metoden är gemensam med Värmeforsk projekt Q9-745. Krossning av material är

det föreskrivna förfarandet vid karakterisering av avfall, men då syftet med detta projekt inte är avfallskaracterisering utan framtagande av bättre underlag för riskbedömning av ekotoxikologiska effekter då en konstruktion med slaggrus lakar till omgivningen anser vi att siktning är ett bättre provberedningsalternativ. Om materialet krossas kommer nya ytor att friläggas och sammansättningen i lakvattnet blir annorlunda jämfört med ett naturligt okrossat prov [10].

Efter siktning delades provet genom spaltdelare enligt EN 15002:2006 i analysprover för lakning och övrig karakterisering.

2.3 Kemisk karakterisering av material

Slaggruset har i en parallell studie (Värmeforsk Q9-745) genomgått en kemisk karakterisering genom uppslutning i mikroångsugn med koncentrerad HNO₃ för att bestämma innehållet av oorganiska ämnen. I samma projekt bestämdes även materialets innehåll av kväve samt totalt organiskt kol (TOC) och totalt oorganiskt kol (TIC), se Tabell 1.

Tabell 1. Kemisk karakterisering med avseende på innehåll av oorganiska ämnen, TOC och TIC (data från Värmeforsk projekt Q9-745).

Table 1. Chemical characterisation of inorganic compounds, TOC and TIC (data adopted from Värmeforsk project Q9-745).

ELEMENT	Slaggrus från Tekniska verken	Enhet
Ca	92 558	mg/kg TS
K	4 433	mg/kg TS
Mg	8 093	mg/kg TS
P	3 458	mg/kg TS
S	4 924	mg/kg TS
As	37,3	mg/kg TS
Cd	8,0	mg/kg TS
Cr	427,8	mg/kg TS
Cu	4 078	mg/kg TS
Mo	11,1	mg/kg TS
Ni	460,9	mg/kg TS
Pb	854,4	mg/kg TS
Sb	5,2	mg/kg TS
Zn	5 288	mg/kg TS
Ag	5,5	mg/kg TS
Hg	0,1	mg/kg TS
IC	28 000	mg/kg TS
N	701	mg/kg TS
TOC	35 800	mg/kg TS

Halten Ca, Cu, K, Mg, P, S och Zn bestämdes med ICP-AES (Inductively Coupled Plasma Atom Emission Spectrometry) (Perkin-Elmer Plasma 2000), och As, Cd, Cr, Mo, Ni, Pb, Sb med ICP-MS (Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometry). Dessa analyser samt analys av kväve utfördes av Avdelningen för Växtekologi och Systematik, Lunds Universitet (Värmeforsk Q9-745).

TOC och TIC analyserades av ALS Scandinavia AB (genom ALS Czech Republic) enligt CSN ISO 10694 samt CSN EN 13137 (Värmeforsk Q9-745).

Vattenkvoten (W_n) för materialet, innan lakning, bestämdes i enlighet med SS-ISO 11465. Ett delprov av det provberedda materialet torkades i $105 \pm 5^\circ\text{C}$ till konstant vikt. Differensen i massa av en mängd jord före och efter torkning används för att beräkna vattenkvoten.

2.4 Laktest

Lakningen utfördes som skaktest enligt SS-EN 12457-3, men sekventiellt i tre steg med ökat kumulativt L/S (se Tabell 2). I varje delsteg skakades materialet i 24 timmar vid L/S 1 (Liquid to Solid ratio) varpå lakvattnet centrifugerades och tryckfiltrerades genom ett $0,45 \mu\text{m}$ cellulosa membranfilter. Som lakvätska användes MilliQ-vatten. Efter avslutat delsteg sparades det fasta materialet och filtren med material i skakburken i kyl ($4 \pm 2^\circ\text{C}$) tills nästa delstegslakning kunde påbörjas. Då fylldes skakburken på nytt med MilliQ-vatten (till L/S 1) och processen med 24 timmars skakning med påföljande avskiljning av lakvatten upprepades. Hela processen upprepades därefter ytterligare en gång (med L/S 1). Således uppnåddes ett kumulativt L/S på 3 L/[kg material].

För att kunna producera tillräckligt med lakvatten för kemisk karaktärisering, ekotoxikologiska tester och DGT-analyser var det nödvändigt att utföra lakningen som flera parallella skaktester, vars lakvatten slogs samman efter varje avslutat delsteg till ett prov.

Tabell 2. Försöksupplägg för lakning.

Table 2. Experimental design of the leaching test.

L/S per uttag	L/S kumulativt	Duplikat A (sammanslagning av 12 burkar)		Duplikat B (sammanslagning av 6 burkar)	
		Provbeteckning	Start datum	Provbeteckning	Start datum
1	1	1A	2011-03-30	1B	2011-04-06
1	2	2A	2011-04-26	2B	2011-05-03
1	3	3A	2011-05-30	3B	2011-06-07

Den sekventiella lakningen utfördes som dubbelprov (betecknas här som Prov A och Prov B), där Prov A bestod av en sammanslagning av lakvatten från 12 st skakburkar medan Prov B är en sammanslagning av lakvatten från 6 st skakburkar. Av praktiska skäl och begränsningar i laboratorietrustning kunde inte samma antal burkar användas i de båda försöken.

Det filtrerade lakvattnet delades upp för påföljande analyser; kemisk karakterisering av lakvatten, DGT-analys samt ekotoxikologisk testning, (se Tabell 3).

Tabell 3. Förteckning över producerade lakvatten och vilka delprover som har tagits ut för vidare analys.

Table 3. List of generated leachates and selected subsamples for further analyses.

Lakvatten	Kem-analys [provbeteckning]	DGT-analys	Ekotox- test	Kommentar
1A	1st [1A-Kem]	1st [1A-DGT]	1st	
1B	1st [1B-Kem]	1st [1B-DGT]	-	
2A	1st [2A-Kem]	2st [2A-DGT(a)]; [2A-DGT(b)]	-	
2B	1st [2B-Kem]	-	1st	
3A	1st [3A-Kem]	1st [3A-DGT]	-	
3B	Kemisk analys utfördes efter ekotox-test då lakväskskan späts med naturligt brackvatten	DGT-analys utfördes efter ekotox-test då lakväskskan späts med naturligt brackvatten	1st	Lakvatten från 3A skulle ha använts för ekotox-test, men provet kom bort i postgången. Därför användes vatten från 3B men det fanns inte tillräckligt med lakvatten för att även utföra kem-analys och DGT på lakvatten 3B före ekotox-test.

2.4.1 Kemisk analys av vatten

Den kemiska analysen av lakvatten utfördes av ALS Scandinavia AB (paket V3-A) med avseende på grundämnen, anjoner (klorid, fluorid, sulfat) samt halt löst organiskt kol (DOC) och totalt oorganisk kol (TIC). Lakvatten för kemisk analys skickades till ALS direkt efter avslutad delstegsläkning. Proverna konserverades med salpetersyra vid laboratoriet.

Lakvattnet analyserades även med avseende på pH, redox och konduktivitet på SGI Miljölaboratorium med pH-meter (PHM 210, Radiometer, Brønshøj, Danmark), redoxmätare (PHM 92, Radiometer, Brønshøj, Danmark med platina och kalomelelektrod) och konduktivitetmätare (CDM 210, Radiometer, Brønshøj, Danmark). Analysen utfördes direkt efter avslutad delstegsläkning.

2.4.2 Lakvatten för ekotoxicitetstest

Lakvatten skickades för ekotoxicitetstester till ITM, enheten för Ekotoxikologi samma dag som lakttesterna avslutades. Flaskor med prover för ekotoxicitetstester kylades under transport.

2.5 DGT-analyser

Med hjälp av DGT-teknik (Diffusive Gradients in Thin-films) utfördes försök med att speciera förekomstformerna för metaller i lakvattnen (utfördes av SGI) samt i spikade ekotox-testade vatten (utfördes av ITM). Efter avslutad provtagning sändes DGT-enheterna till ALS Scandinavia AB för analys (de ackumulerade metall-jonerna som fastnat i DGT-enheten frisätts genom extraktion med syra och halterna bestäms sedan med vanliga analytiska standardmetoder; ICP-AES och/eller ICP-MS). Beräkning av den DGT-labila halten i lösningarna genomfördes också av ALS Scandinavia AB.

För DGT-analysen användes provtagaren ”PS Metal” som tillhandahölls av ALS Scandinavia AB. Denna provtagare är utvecklad för att provta naturliga vatten. Om en liten volym vatten används vid exponering av DGT-enheter finns en risk för att metaller som förekommer i låga halter utarmas från lösningen om ackumuleringen till den passiva provtagaren får fortgå en allt för lång tid. En utarmning av testlösning skulle kunna påverka speciering av ämnet. Beroende på tillgänglig testvolym och förmodad labil halt av lakade metaller justerades exponeringstiden till en så pass lång period att tillräckligt stor andel av metaller skulle ackumuleras i DGT-enheten för att komma över analysens rapporteringsgräns, men samtidigt så pass kort att testlösningen inte utarmades med mer än 10 %.

2.5.1 DGT-analyser utförda på lakvatten

DGT-provtagning av lakvatten utfördes av SGIs Miljölab. I de fall DGT-provtagningen inte kunde startas omgående efter avslutad delstegslakning förvarades lakvattnet i kyl ($4\pm 2^{\circ}\text{C}$) tills analystillfället. Lakvattnet rumstempererades dock innan DGT-analysen påbörjades.

De passiva provtagarna monterades enligt beskrivning från ALS (Instruktioner för provtagning med PS Metal i vatten), men anpassades till laboratorieförhållande, då instruktionerna är avsedda för provtagning av naturligt vatten i fält. Provtagnarna monterades med hjälp av nylontråd i syradiskade plastburkar innehållandes en känd volym av testlösningen (=lakvattnet). Burkarna förslöts med lock i vilka provtagarna var fästa med hjälp av nylontråden varpå de placerades på skakbord för att säkerställa en god omrörning i lösningen. Därtill uppskattades testperiodens medeltemperatur baserat på mätningar vid start och slut. Analys av DGT-labila halter av metaller i lakvattnen startades inom två dygn efter respektive avslutat laktest. I väntan på analys förvarades lakvattnet mörkt i kylskåp $4\pm 2^{\circ}\text{C}$.

I Tabell 4 visas provtagningsförhållanden för de olika testerna. För kumulativt $L/S=1$ utfördes en DGT-analys per lakvatten (dvs. en analys på lakvatten 1A och en på 1B). De båda passiva provtagarna utsattes för lika stor testvolym (601 mL) och lika lång testtid (89 h), men utfördes inte vid samma tidpunkt varför temperaturen över testtiden kan ha haft olika variation. Medeltemperaturen över testtiden var dock den samma (22°C). För kumulativt $L/S=2$ utfördes ett DGT-dubbelprov på lakvatten från lakning 2A genom att montera två DGT i samma burk och tillämpa samma testtid (120 h). För kumulativt $L/S=3$ utfördes endast en DGT-analys (lakvatten från lakning 3A).

Tabell 4. Förhållanden vid DGT-analys av lakvatten vid kumulativ utlakning vid L/S 1, 2 och 3.

Table 4. Conditions during the DGT-testing of leachates at cumulative L/S 1, 2 and 3.

DGT-provtagningsförhållanden, lakvatten:						
Provbeteckning		1A-DGT	1B-DGT	2A-DGT(a)*	2A-DGT(b)*	3A-DGT
L/S		1,0	1,0	2,0		3,0
pH		8,0	7,9	8,0		8,1
Ledningsförmåga	mS/m 25 °C	800	806	500		359
Redox Eh	mV	277	291	302		319
Volym	ml	601	601	2355		1200
Medeltemperatur	°C	22	22	22		25
Tid	h	89	89	120		144

*DGT:erna var placerade i samma kärl med lakvatten.

2.5.2 DGT-analyser utförda på ekotoxtest-vattenprover

Förutom att DGT användes för att studera lakvatten vid L/S 1, 2 och 3 (se 2.5.1) utfördes även en DGT-analys på utvalda testmedium från genomförda ekotoxtest. DGT-provtagning genomfördes av ITM på testmedium med en tillsats av 40,5 % L/S 3 lakvatten samt på försök spikade med tillsats av koppar se avsnitt 2.6. Dessa provvatten utgjordes av samlingsprov bestående av det testmedium som sögs bort vid vattenbyte (dvs. 7 mL per replikat och vattenbyte). Eftersom försöket med koppar avslutades dag 5 bestod detta provvatten av testmedium från dag 3 och 5. För L/S 3 lakvattnet (utan tillsats av koppar) bestod provvattnet av testmedium från dag 3, 5 och 6, då försöket avslutades. Provvattnen förvarades i kylskåp tills alla tester var klara, därefter sattes DGT-provtagaren till testlösningen enligt beskrivning från ALS, se vidare beskrivning under 2.5.1. Då analyserna utfördes på en mycket begränsad volym vatten gick det inte att ha provtagarna hängandes i lösningen utan dessa fick placeras på botten av provkärlet med ”filter-fönstret” uppåt. Tabell 5 anger exakta volymer och exponeringstider för DGT-analysen. Efter exponeringstiden togs provtagarna upp och provvattnet filtrerades genom sterila (non-pyrogenic) 0,45 µm filter. Filtrerade provvatten och DGT-provtagare skickades samma dag till ALS Scandinavia AB för vidare analyser.

Tabell 5. Provtagningsförhållanden vid DGT-analys av vatten efter ekotox-tester på lakvatten från L/S 3 samt på spikade prover

Table 5. Conditions during the DGT-testing of water samples after ecotox-testing of leachate from L/S 3 and of samples containing additional amounts of copper.

DGT-provtagningsförhållanden ekotoxtestade vatten:						
L/S		3*	3*	3*		3*
Tillsats Cu	µg/l	0	60	120		240
pH		8-7,9	7,9	-		7,9
Volym	ml	146	107	105		106
Testmedium från	dag	3, 5 & 6	3 & 5	3 & 5		3 & 5
Medeltemperatur	°C	22**	22**	22**		22**
Tid	h	24,6	16,2	16,2		16,2

*OBS! Analyserna utfördes inte direkt på lakvatten utan på prov som innehöll 40,5% av lakvatten och 59,5 % spädvatten.

**Temperaturen var betydligt lägre än medeltemperaturen under försökets inledning då provtagningen startades i en kylskåpskall lösning (9 °C). Efter ca 1 till 2h (beroende på försöksvolymen) nåddes dock medeltemperaturen. Lägre inledande temperatur ger långsammare upptag i DGT-enheten. Felet kan dock skattas vara mindre än 2 %.

2.6 Ekotoxikologiska tester

LDR-testet, som nyligen är upptagen som en s.k. ”work item” för att bli en ISO-standard (Early life-stage test with *Nitocra spinipes*), utfördes med några små undantag enligt [11-12].

Vid försöksstart fördelades nyfödda (inom 24h) djur (nauplier) slumpmässigt till testkärl av glas; cirka 10 djur per replikat och 8 replikat per behandling och kontroll. Djuren matades med en suspension av mikroalgen *Rhodomonas salina* (50 µL av 5×10^7 celler/mL) vid försöksstart samt vid varje vattenbyte, som gjordes dag 3 och 5 genom att 70 % av testmediet sögs av och ersätts med färsk testlösning. Djurens status undersöktes dagligen och efter 5, alternativt 6 dagar, hade 50 % av djuren i kontrollen genomgått metamorfos till ett copepodit-stadium och försöket avbröts. Andelen copepoditer av totala antalet djur som lever vid försökets slut utgör den testvariabel som kallas Larval Development Ratio (LDR). Dödlighet är den andra testvariabel som används i testet och denna beräknas genom att subtrahera det totala antalet levande djur/behandling vid försökets slut från antalet djur/behandling som försöket startades med. För mer detaljerad information om testet hänvisas till en tidigare Värmeforsk-rapport [2].

Alla tre lakvattnen (L/S 1, L/S 2 och L/S 3) skickades färska samma dag som lakningen avslutades vid SGI och ankom ITM dagen efter. Proverna förvarades i kylskåp fram till start av test, vilket skedde samma dag proverna anlände till laboratoriet (L/S 1-3) och dagen efter för de två försöken med koppar och kalium spikade till den högsta koncentrationen av L/S 3 (dvs. 40,5 %).

I samband med start och avslut av försök mättes pH, salinitet och syrehalt, (värden för pH redovisas i Tabell 6, en mer detaljerad beskrivning finns dessutom i Bilaga A). Saliniteten i lakvattnen justerades med NaCl (Merck, pro analysi) innan beredning av stamlösningar till $6,0 \pm 0,2$ ‰, vilket är den salthalt som *N. spinipes* odlas i laboratoriet. Syrehalt och pH var inom det för larvutvecklingstestet godkända intervaller, för mängden syre är det 80 % av luftmättnadsvärdet och för pH är intervallet 6-9.

Tabell 6 Variation i pH under ekotoxikologiska tester.

Table 6. Variation of pH during ecotox-testing.

Prov	L/S 1	L/S 2	L/S 3	L/S 3 tillsats av Cu	L/S 3 tillsats av K
pH-variation	8,3-8,4	8,1	8-7,9	7,9	8-8,1

Lakvattnen testades i en geometrisk serie med fem koncentrationer (0,5; 1,5; 4,5; 13,5; och 40,5 %) och bereddades genom utspädning av 100 % lakvatten med ett naturligt brackvatten som spädningsmedium (samma som kontrollmedium). Brackvattnet hämtades utanför Stockholms universitets fältstation på Askö utefter Sörmlandskusten. Saliniteten är normalt mellan 6,0 och 6,5 ‰ och pH ligger mellan 8,0 och 8,6. Spädningsmediet förbehandlades genom veckfiltrering (0,03 mm) och därefter upphettning till 80°C. Efter avsvälning filterades mediet genom ett 1 µm GF/C filter.

I testerna med inblandning av koppar och kalium användes följande nominella koncentrationer: 60, 120 och 240 µg/L för koppar och 35, 105 och 315 mg/L för kalium. Dessa koncentrationer valdes utifrån tidigare erhållna resultat för respektive ämne (Värmeforsk 2011). Eftersom vi strävade efter att utföra samtliga försök med L/S 3 lakvatten inom en så pass kort tidsrymd som möjligt (en dags förskjutning) var det i försöken med koppar och kalium inte praktiskt genomförbart att använda fler än tre koncentrationer per test.

En stamlösning (270 mg/L) med koppar bereddes genom att en uppvägd mängd CuCl₂ (Merck, AnalR) löstes i MilliQ-vatten. Mycket små volymer av denna stamlösning pipetterades sedan över till tre mätkolvar med 40,5 % salinitet-justerat L/S 3 lakvatten. Eftersom volymerna av den tillsatta stamlösningen i MilliQ-vatten var så små förändrades inte saltheten. En stamlösning (15 000 mg/L) med kalium bereddes genom att en uppvägd mängd KCl (Merck, pro analysi) löstes direkt i 40,5 % L/S 3 lakvatten, vilken sedan användes för att i mätkolvar bereda de tre koncentrationerna av kalium. För att möjliggöra en slumpvis allokering av djur vid försöksstart utan att kontaminera respektive testkärl, fördes djuren - en och en - över i 5 mL spädnings/kontrollmedium. Vid försöksstart gjordes därför dubbelt så starka lösningar av såväl koppar som kalium; 5 mL av respektive ”dubbla” lösning pipetterades över när samtliga testkärl innehöll 10 testdjur. Vid vattenbyte dag 3 och 5 enligt ovan bereddes de önskade halterna av koppar respektive kalium.

2.6.1 Statistiska analyser

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 mot specifika behandlingar minskades signifikansnivån från 0,05 genom en s.k. Bonferroni-korrektion (dvs. 0,05/antalet jämförelser mot samma kontroll).

3 Resultat och diskussion

Nedan redovisas och diskuteras resultaten från lakförsöken (avsnitt 3.1), DGT-analyserna (avsnitt 3.2 och 3.3) och de ekotoxikologiska testerna (avsnitt 3.4).

3.1 Lakning

I Tabell 7 visas validitetsparametrar för den kumulativa utlakningen i form av pH, ledningsförmåga och redox. Validitetsparametrarna visar god precision och är stabila med avseende på pH och redox.

Tabell 7. Validitetsparametrar uppmätta vid avslut av lakförsök.

Table 7. Parameters of validation measured at termination of leaching.

Validitetsparametrar	L/S	1	2	3
pH		8,0 ($\pm 1\%$)	8,1 ($\pm 1\%$)	8,1 ($\pm 0\%$)
Ledningsförmåga	mS/m 25 °C	803 ($\pm 1\%$)	506 ($\pm 2\%$)	373 ($\pm 5\%$)
Redox Eh	mV	284 ($\pm 3\%$)	280 ($\pm 11\%$)	315 ($\pm 2\%$)

I Tabell 8 visas koncentrationer av ämnen i lakvattnen vid L/S 1, 2 och 3. I de fall replikat utförts visas medelvärdet och standardavvikelsen som % av medelvärdet. För samtliga enskilda analysresultat hänvisas läsaren till sammanställning av analysprotokoll i *Underlag till Q-754*, arkiverad hos Värmeforsk.

Lakförsök som utförts i replikat uppvisar god precision. Standardavvikelsen är i allmänhet inte större än analysfelen i den kemiska analysen, (*Underlag till Q-754*). Vid en jämförelse måste dock hänsyn tas till att analysresultaten redovisas med utökad mätosäkerhet vilket i princip motsvarar 2 gånger standardavvikelsen.

Data för lakvätskorna visar att askan nått en långtgående karbonatisering med ett stabilt pH vid ca 8. Askans innehåll fortfarande en betydande mängd lösliga salter där halter i lakvätskan minskar tydligt från L/S 1 till L/S 3. Detta gäller främst Na, K och Cl som minskar med 75 %, 65 % respektive 90 %. Halterna av Ca, Al och Zn är stabila. Halten av Cu, som är viktigt med avseende på ekotoxikologiska effekter i lakvattnet, minskar med 50 % från L/S 1 till L/S 3. Koppars komplexbinder starkt till organiskt material och utlakning av koppar från askor är kopplat till halten av DOC [13]. Halten av DOC minskar samtidigt med ca 35 % från L/S 1 till L/S 3.

Tabell 8. Halter av ämnen i lakvatten (uttagna vid L/S 1, 2 och 3) samt i spädningsmedia för toxicitetstest. Proverna filtrerades genom 0,45 µm porfilter innan analys. För jämförelse visas också bakgrundshalter i Östersjön för en lokal (Landsortsdjupet) som bör vara jämförbar med spädvattnets ursprung (utanför Askö).

Table 8. Concentrations of compounds in leachates (sampled at L/S 1, 2 and 3) together with concentrations in solution used for dilution in the ecotox-tests. Samples were filtrated through 0.45 µm pore-filter prior analyses. For comparison, concentrations in natural water sampled at the location Landsortsdjupet in the Baltic Sea are also shown. This sample is assumed to be comparable with the origin of the water used for dilution (Askö).

Halt i lakvatten vid L/S 1, 2 och 3						Halt i spädningsmedia				
	L/S 1 n=2	Stdv %	L/S2 n=2	Stdv %	L/S3	Spädnings- media* ofiltrerat	Spädnings- media* n=2 filtrerat	Stdv %	Landsort s- djupet**	
Metaller										
Ca	mg/l	526	2	520	2	525	89	96,8	4	92
Fe	mg/l	<0,007		<0,004		0,005	<0,004	0,0187	112	0,0016
K	mg/l	210	12	114,5	2	77,1	70,2	74,7	13	70,8
Mg	mg/l	62,8	2	44,45	1	38,2	224	237	6	223
Na	mg/l	1435	2	695	0	377	1940	1980	4	1847
Si	mg/l	2,855	3	2,845	3	2,63				
Al	µg/l	200,5	1	196,5	5	209	5,68	10,4	50	
As	µg/l	3,245	15	<2,7		<1	2,31	2,31	74	
Ba	µg/l	42,4	1	32,5	4	29,5	38,4	37,4	2	
Cd	µg/l	<0,095		<0,071		0,077	< 0,05	< 0,05		0,021
Co	µg/l	0,9945	12	0,826	26	0,592	< 0,05	0,09	63	
Cr	µg/l	6,215	1	3,32	0	2,11	< 0,50	0,842	24	
Cu	µg/l	79,4	16	50,3	3	39,3	2,67	3,55	13	0,55
Hg	µg/l	<0,02		<0,02		<0,02	<0,02			
Mn	µg/l	15,85	2	25	3	27,4	2,5	1,59	82	1,7
Mo	µg/l	221,5	6	174	6	134				
Ni	µg/l	5,41	4	5,09	25	3,41	5,86	7,14	25	0,69
Pb	µg/l	0,4115	10	<0,2		0,22	< 0,20	0,24	24	
Sb	µg/l	37,5	10	24,45	0	18,2				
Se	µg/l	3,46	11	1,645	9	0,897				
V	µg/l	1,05	0	1,055	6	0,888				
Zn	µg/l	27,65	5	26,9	23	26,1	12,8	14,1	16	0,38
Övriga										
Cl	mg/l	936	4	337	17	106	4730	3915	19	
F	mg/l	<0,2		0,41		<0,2	<0,4			
S-tot	mg/l	1220	1	822	12	741	185	188	6	161
SO4	mg/l	3470	5	2500	7	2180	661	550	17	
DOC	mg/l	13,3	3	5,855	15	4,43	3,48	4,48	33	3-5
DIC	mg/l	22,7	1	21,75	7	18,6				2***

*Data för spädmedium hämtad ur rapport av Värmeforsk (2011). Spädmedium är filtrerat och upphettat brackvatten hämtat utanför Stockholms universitets fältstation på Askö.

**Data gällande för Landsortsdjupet från Forsberg (2005) med undantag för DOC där data är hämtade från Österlund (2010) och är representativa för Bottniska viken och Gotlandsdjupet.

*** Förväntad halt i Havsvatten.

För de ämnen som i tidigare studier av författarna [2, 4] har antagits ge viktiga bidrag till toxiska effekter i asklakvatten, har också ett toxicitetsindex (TI) beräknats för den högsta testade koncentrationen av lakvätska. TI anger kvoten mellan halten i testvätskan och halten över vilken det finns risk för toxiska effekter (NOEC - No Observed Effect Concentration). Om TI ligger nära, eller överstiger värdet 1, indikerar det att ämnet kan orsaka toxiska effekter. TI har beräknats enligt ekvation 3 där det finns möjlighet att ta hänsyn till bakgrundshalten i det spädmedium som använts vid de ekotokologiska testerna. Ekvationen är utformad så att det endast är det tillskott som tillkommer utöver bakgrundshalten i spädvätskan som beräknas ge en toxisk effekt. I Tabell 8 har data för

spädvattnets innehåll enligt tidigare genomförda analyser sammanställts och ställts i relation till data på bakgrundshalter i Östersjön för en lokal (Landsortsdjupet) som bör vara jämförbar med spädvattnets ursprung (utanför Askö). Uppmätta data för spädvattnet [4] visar på tydligt förhöjda halter jämfört med bakgrundshalter i Östersjön för ämnena Cu, Ni och Zn. Det tyder på att det i hanteringen av spädvatten finns en källa till kontaminering. Halten av ämnena Al, Cu, Pb och Zn i spädvätskan är dock så låg jämfört med den halt där en toxisk effekt uppstår att en korrigering med hänsyn taget till bakgrundshalten inte är nödvändig vid beräkning av TI, utan spädmidiets halt kan sättas till noll. För Ca och K medför ett relativt litet tillskott utöver bakgrundhalten mätbara toxiska effekter vid LDR-test med *Nitocra* och en justering med hänsyn till halt i spädvattnet enligt Ekvation 1 är nödvändig.

$$TI = \frac{([Lakkvätska] - [Spädvätska]) \times \text{Utspädning}}{NOEC} \quad (3)$$

För ämnena Pb och Zn ligger TI i lakvattenen så lågt att toxiska effekter i ett LDR-test rimligen helt kan uteslutas, (se Tabell 9). För Ca och Al är TI stabila och nära 1 för samtliga lakvatten uttagna mellan L/S 1 till L/S 3, och indikerar därmed en risk för toxiska effekter. För Al gäller dock att NOEC är framtaget för en reaktiv form av Al som kan föreligga i starkt basiska lakvatten [4]. Det väl känt är att Al vid pH 8 inte ger några toxiska effekter och TI för Al är därför missvisande här, vilket även bekräftas av provtagning med DGT (se avsnitt 3.2) som visar att Al har mycket låg biotillgänglighet vid aktuellt pH. För K erhöles ett TI som överskrider 1 för L/S 1, men vid högre L/S sjunker halten väl under de nivåer där index indikerar risk för toxiska effekter. Beräknade TI för Cu indikerar att ingen betydande risk för toxicitet föreligger och index sjunker även tydligt från L/S 1 till L/S 3.

Tabell 9. Koncentrationer där ämnena inte förväntas ge någon toxisk effekt för Nitocra LDR (NOEC) samt beräknade toxicitetsindex vid 40,5 % utspädning av lakvätskorna i toxicitetstest. Data för NOEC hämtade från (Värmeforsk, 2011).

Table 9. No Observed Effect Concentrations (NOEC) for Nitocra LDR together with calculated toxicity index (TI) at 40.5% dilution of leachates in tox-tests. Data for NOEC adopted from (Värmeforsk, 2011).

	NOEC (mg/l)	Toxicitetsindex vid 40,5 % utspädning av lakvätska		
		L/S 1	L/S 2	L/S 3
Al	0,09	0,90	0,88	0,94
Ca*	160	1,10	1,09	1,10
K*	35	1,62	0,51	0,08
Cu	0,06	0,54	0,34	0,27
Pb	0,27	0,00	0,00	0,00
Zn	0,24	0,05	0,05	0,04

*Värden för toxicitetsindex har justerats enligt Ekvation 1 med hänsyn till spädmidiets halt av ämnena. Spädmidiets halt har hämtats från Tab. 8 och har antagits vara ca 70 mg/L för K och 90 mg/L för Ca. Negativa toxicitetsindex indikerar att halten i testlösningen är lägre än i spädmidiet.

3.2 Analyser av lakvatten med DGT-provtagare

I Tabell 10 visas en sammanställning av resultat från DGT-analys av lakvatten där både den totalt uppmätta DGT-labila halten och dess andel av den totala halten uppmätt med

kemisk analys (efter filtrering) redovisas. I de fall replikat utförts visas medelvärdet och standardavvikelsen som % av medelvärdet. För samtliga enskilda analysresultat hänvisas läsaren till sammanställning av analysprotokoll i *Underlag till Q-754*, arkiverad hos Värmeforsk.

Precisionen i DGT-mätningar framstår som mycket god då DGT-provtagarna exponeras i samma lakvatten (data för L/S 2 i Tabell 10). Även när provtagarna är exponerade för lakvatten från två olika lakförsök-replikat (data för L/S 1 i Tabell 10) är precisionen i huvudsak god. För Fe, Cr och Pb är dock precisionen i det senare fallet låg. En förklaring till den låga precisionen kan vara att dessa ämnen förekommer i låga DGT-labila halter nära analysmetodens detektionsgräns. Antalet replikat är dock alltför få för att i mer detalj kunna ange orsaker till variation i precision för olika ämnen.

Tabell 10. Koncentrationer av DGT-labila ämnen i lakvatten. Andelen DGT-labil halt är beräknad som fraktion av den totalt uppmätta halten efter filtrering, se Tabell 8.

Table 10. Concentrations of DGT-labile compounds in the leachates and the fraction (in %) of DGT-labile concentrations of the total leached concentrations (measured with chemical analysis after filtering, see Table 8).

DGT-labila halter i lakvatten µg/l						Andel DGT-labil halt av tot halt i lakvatten %			Beräknad fri**** andel i lakvatten
	L/S 1 n=2	Stdv %	L/S2 n=2	Stdv %	L/S3	L/S 1	L/S 2	L/S 3	L/S 3
Fe	0,22	42	1,2	1	6,5	ca 3*	>15	132	1
Al	7,5	14	6,6	0	4,0	4	3	2	80
Ba	0,19	1	0,14	5	EA	0,5	0,4	-	-
Cd	0,16	0	0,11	4	0,080	> 80	ca 200**	103	80
Co	0,35	1	0,39	3	0,35	35	47	59	
Cr	0,064	77	0,14	6	1,9	1	4	91	1
Cu	23	5	21	3	14	29	43	34	5
Mn	8,9	1	16	3	11	56	64	39	100
Ni	2,2	3	2,4	3	3,4	40	47	98	90
Pb	0,093	48	0,12	1	0,095	23	ca 50***	43	5
Zn	18	5	19	4	14	65	71	55	90

EA=Ej analyserat.

* Värdet ligger mellan 1,6% < X < 4,4%

** Värdet ligger mellan 160% < X < 240%

*** Värdet ligger mellan 38% < X < 74%

**** Värdet anger den beräknade andelen av metalljonen i olika former av vattenlösning exklusive den del som är bunden till organiska ämnen (humuslikande ämnen). Beräkningarna har hämtats från modelleringar med Leach XS genomförda på ett åldrat slaggrus som underlag till Suer, P., Bendz, D. and Toomväli, C. 2009: Ageing under field conditions- results from a long-term lysimeter study. In: Méhu, J., Goumans, J. J. J. M. and Heynen, J. J. M. (eds.) Wascon 2009 - Sustainable management of waste and recycled materials in construction, Lyon.

För Fe och Cr ökar den DGT-labila halten och andelen av totalhalten tydligt från L/S 1 till L/S 3. Även övriga ämnen uppvisar variationer i DGT-labila halter och deras andel av den totala halten, men i betydligt mindre omfattning. För Al och Ba är den labila halten och andelen mycket låg på en stabil nivå över studerade L/S. Aluminium förväntas inte vara humusbundet (se Tabell 10) varför den låga DGT-labila andelen bekräftar tidigare antaganden om att Al som uppmätts i asklakvatten från åldrade bottenaskor (pH 8-9) till stor del förekommer i kolloidal form och därmed inte är direkt biotillgängligt [4, 13]. Således kommer den ekotoxikologiska potentialen av Al vid nära neutrala pH att överskattas om halten Al bestäms med ”klassisk” kemisk analys av asklakvatten efter filtrering (0,45 µm).

För Fe och Cd har den DGT-labila andelen uppmätts till mer än 100 %. Detta beror på att DGT-tekniken medför en uppkoncentrering av analyterna och en minskning av störande komponenter (t ex. klorid) som förbättrar analysmetodens noggrannhet.

3.3 Analyser av toxicitetstest med DGT-provtagare

I Tabell 11 redovisas uppmätta och beräknade halter i testlösningen innan provtagning med DGT-enheten. Sammanställning av analysprotokoll över DGT-analyser finns i *Underlag till Q-754*, arkiverad hos Värmeforsk.

Tabell 11. Analysresultat för testlösningar från toxicitetstest vid den högsta testade koncentrationen av lakvätska L/S3 (L/S 3 40,5 % och spädmedium 59,5 %). Proverna filterades genom 0,45 µm porfilter innan analys. Som jämförelse anges även halten i lakvätskan vid L/S 3.

Table 11. Measured concentrations of elements etc. in the highest tested concentration of eluate (40.5% L/S 3 eluate and 59.5% dilution medium) used in the ecotoxicological tests. Samples were filtered through 0,45 µm before analysis. Measured concentrations in the L/S 3 eluate are also provided.

Halter i testlösning L/S 3 40,5% spädvatten 59,5 %					Halt i lakvätska	
Tillsats av Cu	0 µg/l	60 µg/l	120 µg/l	240 µg/l	L/S 3 40,5 %**	L/S 3 100%
Metaller						
Ca*	mg/l	215	267	262	267	525
Fe*	mg/l	<0.004	<0.004	<0.004	<0.004	0,0049
K*	mg/l	79,9	83,4	81,0	81,6	77,1
Mg*	mg/l	189	164	163	166	38,2
Na	mg/l	2102	2113	2123	2153	377
Si	mg/l	1,37	1,75	1,58	1,76	2,63
Al*	µg/l	39,6	15,6	14,2	18,8	83 209
As	µg/l	<2	<4	<4	<4	<1
Ba*	µg/l	36,8	40,4	39,1	39,5	29,5
Cd*	µg/l	0,14	0,52	1,02	0,81	0,03 0,0772
Co*	µg/l	0,31	0,33	0,36	0,34	0,24 0,592
Cr*	µg/l	1,66	1,74	1,78	1,81	0,85 2,11
Cu*	µg/l	12,7	58,4	87,6	176	15 39,3
Hg	µg/l	<0.02	<0.02	<0.02	<0.02	<0,02
Mn*	µg/l	17,1	19,1	19,5	19,0	11 27,4
Mo	µg/l	41,4	56	57,4	56,6	54 134
Ni*	µg/l	5,33	7,51	7,34	7,43	1,5 3,41
Pb*	µg/l	0,7	19,1	10,0	18,2	< 0,09 0,22
Sb	µg/l	6,52	9,27	9,73	9,56	7,4 18,2
Se	µg/l	0,325	0,407	0,422	0,43	0,36 0,897
V	µg/l	0,385	0,411	0,436	0,447	0,36 0,888
Zn*	µg/l	9,0	12,3	15,0	18,4	10,5 26,1
Övriga						
Cl	mg/l	4290	4220	4060	4200	106
F	mg/l	<0.400	<0.400	<0.400	<0.400	<0,200
S	mg/l	347	413	412	420	741
SO4	mg/l	1110	1370	1310	1350	2180
DOC	mg/l	5,28	6,45	6,08	6,16	4,43
TIC	mg/l	18,4	17,4	18,3	17,6	18,6

* Halten är en sammanvägning av den uppmätta halten i testlösningen efter DGT-provtagning och den mängd som varit fastlagd och analyserats i DGT-enheten. För övriga metaller och halvmetaller bedöms baserat på kompletterande mätningar (ej redovisade) att mängden som tagits upp i DGT-enheten är försumbar.

** Halten har beräknats baserat på att halten i lakvatten L/S 3 späds med ett vatten helt fritt från innehåll av andra ämnen än vatten.

Av Tabell 11 framgår att halten av Pb och Cd i testlösningen, och framför allt i de spikade testlösningarna, är tydligt förhöjda jämfört med halten i lakvätskan. Det samma gäller även för Ni, om än i mindre grad. Detta beror troligen på en kontaminering av proverna vid ITM. När detta skett är oklart, men mest troligt är att det skett i samband med exponering av DGT-provtagare. Det är inte troligt att det skett som en följd av att proverna spikats med koppar, eftersom det inte finns ett tydligt samband mellan mängden tillsatt koppar och de detekterade halterna. Halterna av Pb, Cd och Ni ligger dock väl under NOEC-värden och förväntas därför inte ge ett betydande bidrag till toxiciteten vid LDR-test med *Nitocra*.

Den analyserade halten av Cu ligger i spikade försök tydligt under den beräknade tillsatta halten. Med hänsyn taget till att även lakvätskan innehåller Cu är förlusten 23 %, 34 % och 33 % vid tillsats av 60, 120 respektive 240 µg/l. Det är dock enligt erfarenheter vid ITM inte ovanligt att en förlust av i storleksordningen 20 % registreras i LDR-test med *Nitocra*.

Halten av Al i testlösningarna är betydligt lägre än i lakvätskan. Detta gäller särskilt för de spikade proverna med tillsatt Cu, (se Tabell 11). Den DGT-labila halten av Al är dock något högre än i lakvattnet, vilket medför att den DGT-labila andelen av Al är hög i testlösningarna jämfört med i lakvattnet, se Tabell 12.

Tabell 12. Analysresultat för DTG-analyser av toxicitetstest vid den högsta testade koncentrationen av lakvätska L/S3 (L/S3 40,5 % och spädmedium 59,5 %).

Table 12. Measured concentrations of selected elements in the highest tested concentration of eluate at L/S 3 (L/S 3 40,5% and 59,5% dilution medium) from the DGT-analysis.

DGT-labil halt i µg/L					Andel DGT-labil av tot halt %100%					
Testlösning L/S 3 40,5 %					L/S 3 100 %	Testlösning L/S 3 40,5%				L/S 3 100 %
Tillsatt Cu	0 µg/l	60 µg/l	120 µg/l	240 µg/l		0 µg/l	60 µg/l	120 µg/l	240 µg/l	
Fe	<2	<2	<2	<2	6,5	-	-	-	-	132
Al	11,5	14,6	12,3	15,6	4,0	29	94	87	83	2
Ba	0,623	1,14	1,03	1,48		2	3	3	4	-
Cd	0,097	0,399	0,724	0,584	0,080	71	77	71	72	103
Co	0,095	0,163	0,214	0,171	0,35	31	49	59	50	59
Cr	<1	<1	<1	<1	1,9	<60	<57	<56	<55	91
Cu	3,12	22	32,7	79,5	14	24	38	37	45	34
Mn	6,36	9,09	9,87	9,6	11	37	48	51	51	39
Ni	2,57	4,71	4,82	4,99	3,4	48	63	66	67	98
Pb	<0,03	9,38	4,64	8,71	0,095	<4	49	46	48	43
Zn	6,82	13,3	13,7	17,8	14	76	108	91	97	55

Den DGT-labila andelen av olika ämnen är likartad för de testlösningar som spikats med Cu, se Tabell 12. Det gäller även för Cu där den labila andelen bara varierar mellan 38 % och 45 % medan den totala halten ökar från 58-178 mg/L. Testlösningen utan tillsats av Cu uppvisar en DGT-labil halt och DGT-labil andel som är systematiskt lägre för samtliga ämnen (med undantag för Cd) än för testlösningen som spikats med Cu.

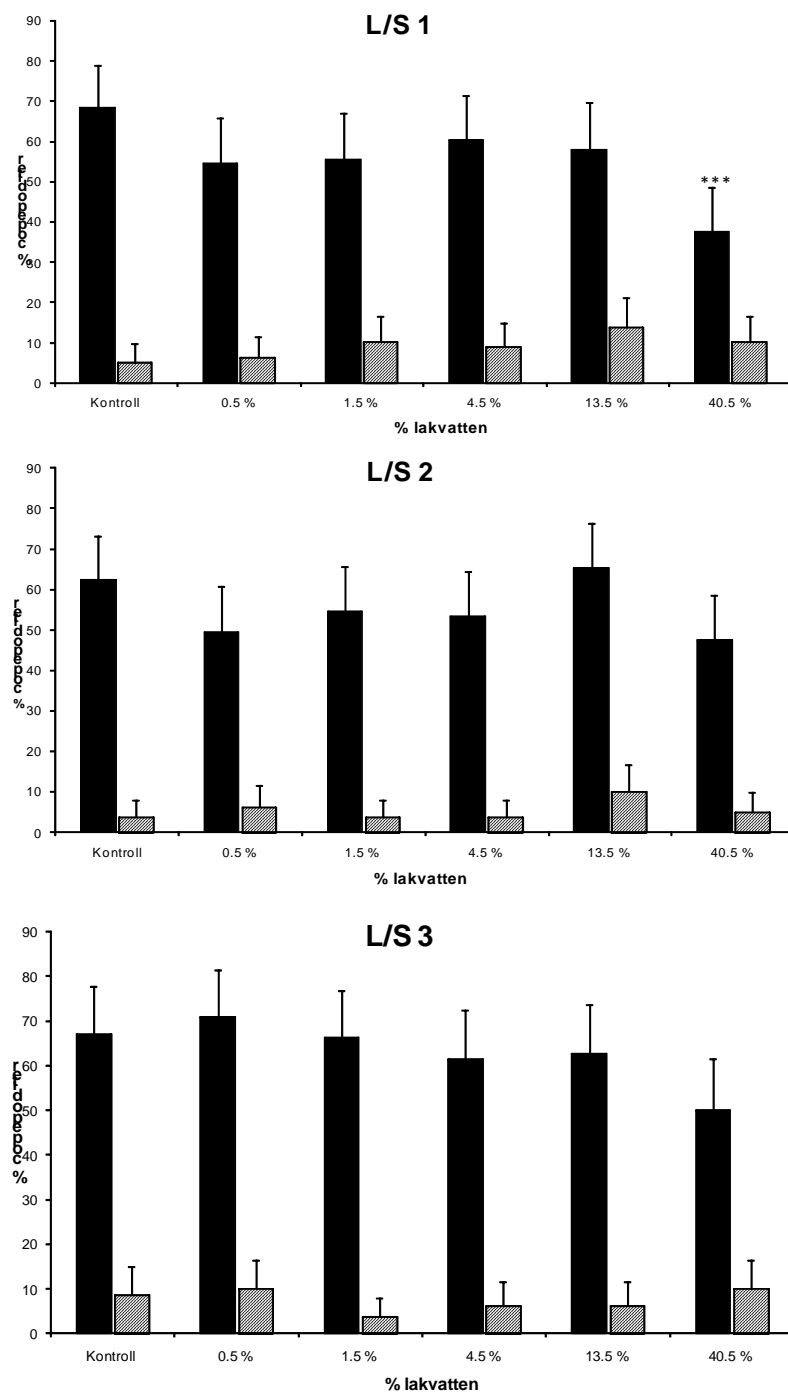
Även lakvätskan innan blandning med spädmedium (L/S 3 100 %) uppvisar DGT-labila andelar som skiljer sig tydligt från både testlösningen och de spikade testlösningarna. För lakvätskan är dock skillnaden inte systematiskt lägre eller högre utan varierar från ämne till ämne.

Analyser med DGT-provtagare visar att den DGT-labila andelen och därmed sannolikt även den biotillgängliga andelen av olika ämnen tydligt varierar i olika testade vatten och i lakvatten. För Cu, som är ett av de kritiska ämnena från en ekotoxikologisk synpunkt, är den uppmätta variationen i DGT-labil andel tämligen begränsad, från 24 till 45 %, men ändå av sådan omfattning att det bör kunna ha stor påverkan ämnets biotillgänglighet i toxicitetstest.

3.4 Ekotoxikologiska tester

Resultaten från de ekotoxikologiska testerna där *Nitocra spinipes* exponerats för de tre lakvatten som genererats vid L/S 1, 2 respektive 3 redovisas i Figur 2.

Den enda statistiskt signifikant skiljda effekten från en kontrollgrupp observerades för larvutveckling (LDR) vid exponeringen för den högsta testade koncentrationen (40,5 %) av lakvatten vid L/S 1. För samtliga tre lakvatten ligger dödligheten i såväl behandlingar som kontrollgrupp betydligt under 20 %, vilken är den accepterbara andelen djur som får dö i en kontrollgrupp för att ett test skall vara tillförlitligt. Om man jämför resultaten med beräknade toxicitetsindex i Tabell 9 är det tre ämnen som förväntas kunna orsaka toxicitet i lakvätskan, nämligen Ca, Al och K. För Al har ovan visats att den låga biotillgängligheten gör att någon toxisk effekt inte förväntas. För Ca indikerar beräknade toxicitetsindex en konstant toxicitetseffekt för alla lakvatten, vilket stämmer dåligt med observerad toxicitet. Resultaten bekräftar att det ämne som bäst överensstämmer när det gäller trend för toxicitetsindex och den uppmätta toxiciteten i lakvätskorna är K.



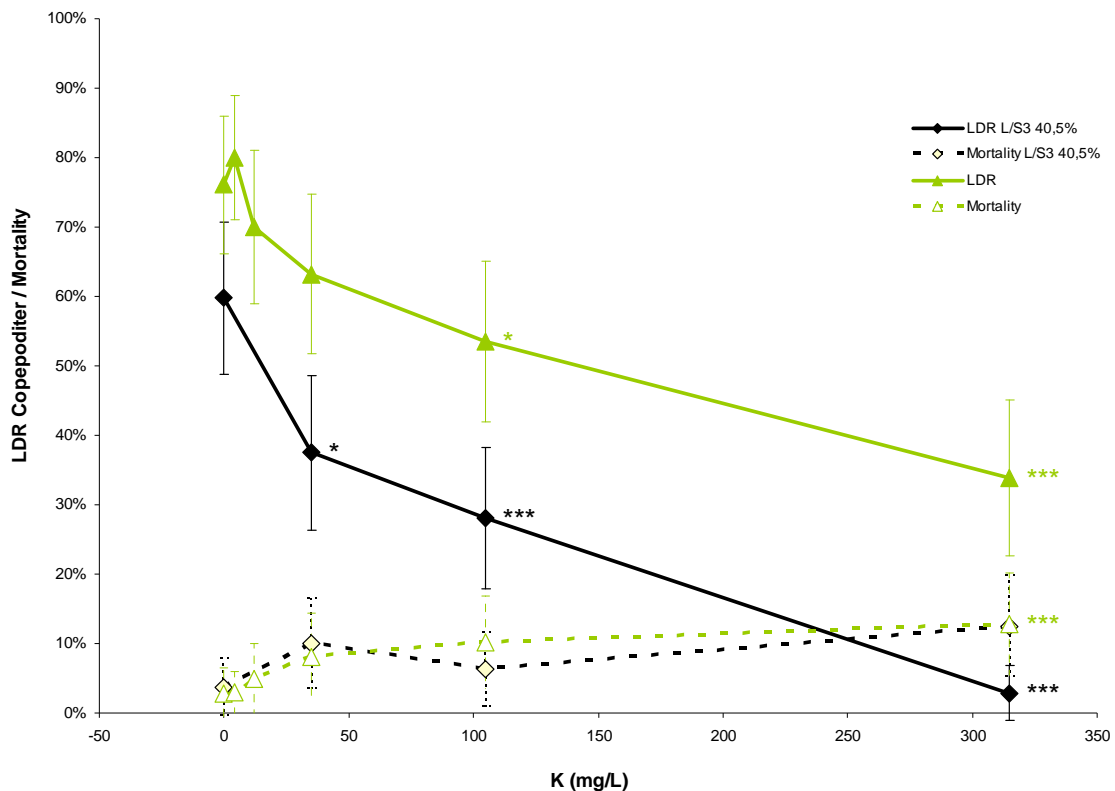
Figur 2. Larvutveckling (LDR; svarta staplar) och dödlighet (randiga staplar) i *Nitocra spinipes* exponerade för lakvatten vid L/S 1, 2 respektive 3. Felstaplar indikerar 95% konfidensintervall av medelvärden. *** $p < 0.001$.

Figure 2. Larval development ratio (LDR, black bars) and mortality (striped bars) in *Nitocra spinipes* exposed to eluate at L/S 1, 2 and 3, respectively. Error bars denote 95% confidence intervals of means. *** $p < 0.001$.

I Figur 3 redovisas resultaten från det test där *Nitocra spinipes* exponerats för kalium (35, 105 och 315 µg/L) spikat till den högsta koncentrationen av lakvatten vid L/S 3 (40,5 %) samt tidigare försök då toxicitet och NOEC-värden bestämts för spädningsmedium [4]. Ett tillskott av K till lakvatten genererat vid L/S 3 ger tydliga effekter, dock endast på larvutveckling. Denna effekt var kraftig och följer ett tydligt koncentrations-respons-samband, med statistiskt signifikant skiljda effekter jämfört med kontrollen redan i den lägsta koncentrationen av K (35 mg/L). Vid tidigare test på *Nitocra spinipes* med samma testmetod [4], men i spädningsmedium erhöles en effekt på larvutveckling vid koncentrationer ≥ 105 mg/L, samt på dödlighet vid koncentrationer ≥ 314 µg/L. Alltså inga signifikanta effekter vid så låga koncentrationer som 35 mg/L. Sambandet mellan koncentration och respons är dock väldigt likartat för spikade test med L/S 3 (40,5%) och spädmedium, även om en större effekt på LDR erhålls för L/S 3 (40,5%). Det naturliga brackvattnet som rutinemässigt används som spädnings- och kontrollmedium har en viss variation av bakgrundshalten av kalium som ligger på ca 70-80 mg/L. Kaliumhalten i lakvätskan låg inom detta spann, se Tabell 8, och en variation i bakgrundshalt kan inte förklara skillnaden. Allt kalium förväntas vara biotillgängligt oberoende av testmedium varför heller inte variationer i biotillgänglighet kan vara en förklaring. En möjlig förklaring till att samma tillskott av K (ca 44 % av bakgrundshalt) ger större effekt på LDR i närvaro av lakvatten kan vara att halten av andra element i lakvatten är så pass hög att samverkans effekter spelar in.

Det är otvetydigt att en vanligt förekommande akvatisk organism som *Nitocra spinipes* är känslig för relativt begränsade, men snabba, variationer i halten av kalium. Kalium har även i andra vetenskapliga studier visat sig vara toxisk för akvatiska organismer [14-17]. Romano och Zeng [18-19] har även visat att en så pass liten höjning som 10 % av bakgrundshalten av kalium medför utvecklingsstörningar hos en marin krabba. En anledning till denna höga känslighet kan vara att K, som är ett essentiellt element för att upprätta en korrekt jonbalans, men även är inblandad i många andra viktiga fysiologiska processer i akvatiska organismer, normalt återfinns i stabila koncentrationer i den marina miljön, och de organismer som lever där genom evolutionen har anpassat sig till rådande förhållanden [17, 19]. Å andra sidan är halten av K i den akvatiska miljön starkt korrelerad till salthalten; i sötvatten ligger halten på ca 0,5-1 mg/L (miljöövervakningsdata för Dalälven) medan halten av K i det brackvatten ITM använder som kontroll- och spädningsmedium ligger på 70-80 mg/L och halten i marint vatten i studierna av Romano och Zeng [18-19] ligger på över 300 mg/L. Eftersom *Nitocra spinipes* är känd för att tåla fluktuationer i salthalt från ett par promille upp till rena marina förhållanden (dvs. 35‰) [20-21], är det osannolikt att mindre fluktuationer av K utgör en långsiktig risk för *Nitocra*. Testperioden på 6-7 dagar i LDR-testet som använts i denna studie är helt enkelt för kort för att djuren ska hinna acklimatisera sig, och möjligtvis är även haltförändringen för stor på denna relativt korta period. Samtidigt är det tydligt att dödlighet är en betydligt mindre känslig testvariabel jämfört med larvutveckling. Detta visar att djurens utvecklingshastighet avtar men med liten effekt på dödlighet. Ur ett biologiskt och ekologiskt perspektiv indikerar detta att djuren använder sina energidepåer till att anpassa sig till de förändrade förhållandena, vilket minskar tillgången till den energi som behövs för normal tillväxt. Likväl så har de studier som genomförts av projektgruppen under senare år [1-4] tydligt pekat att K står för en stor del av den toxicitet som observerats av olika typer av svenska asklakvatten,

och därmed kan ha stor betydelse för klassificering eller riskbedömning av askor som baseras på ekotoxikologiska akvatiska test.

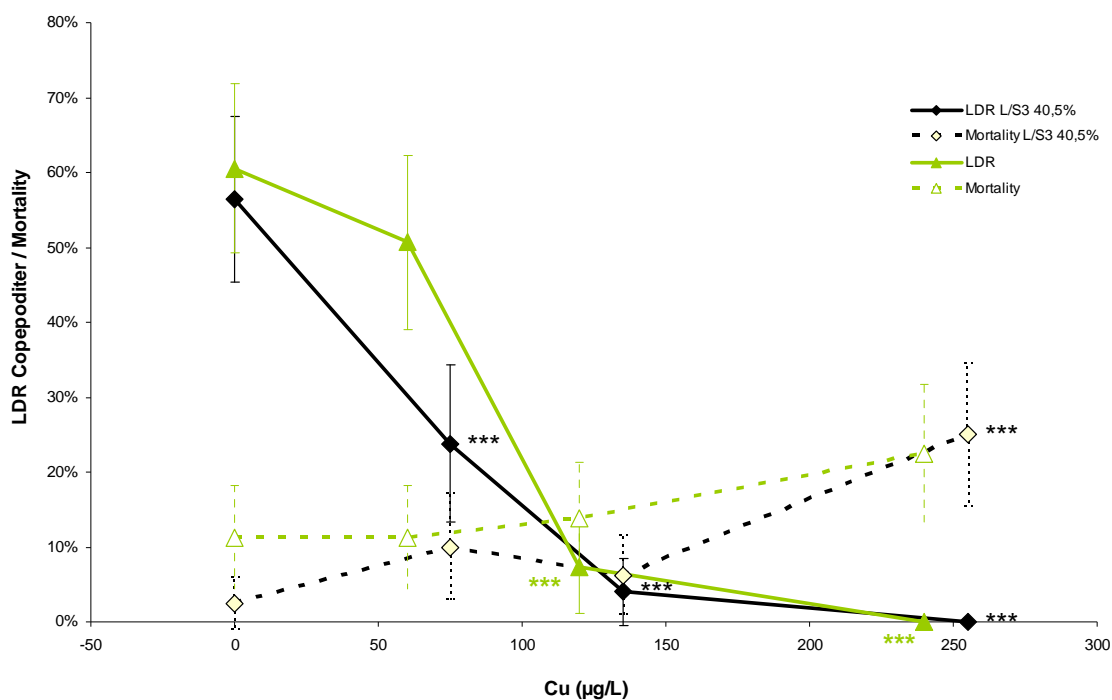


Figur 3. Larvutveckling (LDR) och dödlighet i *Nitocra spinipes* exponerade för kalium löst i spädningsmedium (triangel; brackvatten) och 40,5 % lakvatten vid L/S 3 (romb). Felstaplar indikerar 95 % konfidensintervall av medelvärden. * $p < 0,017$; *** $p < 0,001$.

Figure 3. Larval development ratio (LDR) and mortality in *Nitocra spinipes* exposed to K dissolved in dilution medium (triange; brackish water) and 40,5% eluate at L/S 3 (rhomb). Error bars denote 95% confidence intervals of means. * $p < 0.017$; *** $p < 0.001$.

I Figur 4 redovisas resultaten från det test där *Nitocra spinipes* exponerats för koppar (60, 120 och 240 $\mu\text{g/L}$) spikat till den högsta koncentrationen av lakvatten vid L/S 3 (40,5 %) samt tidigare försök då toxicitet och NOEC-värden bestäms för spädningsmedium [4]. Eftersom lakvattnet redan från början innehöll en förhöjd halt av koppar blir de nominella halterna av koppar 75, 135 och 255 $\mu\text{g/L}$ vid L/S 3 (40,5 %). Effekten på larvutveckling var kraftig och följer ett tydligt koncentrations-respons-samband, med statistiskt signifikant skiljda effekter jämfört med kontrollen redan i den lägsta koncentrationen av koppar för L/S 3 (40,5 %) (75 $\mu\text{g/L}$). För dödlighet observerades emellertid endast en signifikant effekt i den högsta testade koncentrationen av koppar (255 $\mu\text{g/L}$), i vilken 20 av de 80 djur som försöket initierades med dog. Ingen av de 60 överlevande nauplier (larver) utvecklades till copepoditer (juveniler) i denna behandling. Med samma testmetod och koncentrationsintervall (30-480 $\mu\text{g/L}$) ger koppar löst enbart i spädningsmedium en effekt på larvutveckling vid koncentrationer ≥ 120 $\mu\text{g/L}$, samt på dödlighet vid koncentrationer ≥ 480 $\mu\text{g/L}$. Båda försöken - med L/S 3 (40,5 %) respektive enbart spädmedium - ger

mycket likartade koncentrations-respons-samband. Med hänsyn till osäkerheter i koncentrations-respons-sambandet i intervallet 60-120 $\mu\text{g/l}$ samt att tillsatsen av koppar inklusive halten i lakväsken i denna studie var högre än de koncentrationer som användes i [4] är resultaten för larvutveckling och dödlighet i denna studie fullt rimliga. En faktor som kan bidra till en skillnad i toxicitet är variation i biotillgänglighet. Mätningar med DGT-analys, se avsnitt 3.3, indikerar på att biotillgängligheten för koppar kan variera med en faktor 2 mellan olika testomgångar. Studier av koppars speciering vid pH 8 visar att koppar binder mindre starkt till utlakade humusämnen från askan än från markvatten [13] medan bindningen är starkare till organiska ämnen i brackvatten från Östersjön än till organiska ämnen med ursprung från sötvatten [8]. Tillsats av lakvatten till spädvattnet kan därför påverka koppars biotillgänglighet så att den ökar något. Även om ändringar i biotillgänglighet förefaller som en rimlig förklaring till eventuella skillnader i toxicitet för koppar med LDR-test i rent spädmedium och spädmedium med tillsats av lakvatten kan det inte uteslutas att även andra effekter, som exempelvis samverkans effekter spelar in.



Figur 4. Larvutveckling (LDR) och dödlighet i *Nitocra spinipes* exponerade för Cu löst i spädningsmedium (triangel; brackvatten) och 40,5 % L/S 3 (romb). Felstaplar indikerar 95 % konfidensintervall av medelvärden. *** $p < 0,001$.

Figure 4. Larval development ratio (LDR) and mortality in *Nitocra spinipes* exposed to Cu dissolved in dilution media (triangle; brackish water) and 40,5% eluate at L/S 3 (rhomb). Error bars denote 95% confidence intervals of means. *** $p < 0.001$.

4 Slutsatser

Utifrån de försök som har utförts i det aktuella projektet framträder ett antal slutsatser av vilka några kan komma att ha stor betydelse för riskbedömning av askor i allmänhet:

- Den sekventiella lakningen från L/S 1 till 3 visade att slaggrus som åldrats utomhus under 5 år fortfarande innehöll en betydande mängd lösliga salter men att halter i lakväsken minskar tydligt från L/S 1 till L/S 3. Detta gäller främst Na, K och Cl som minskar med 75 %, 65 % respektive 90 %. Halterna av Ca, Al och Zn är stabila. Halten av Cu, som är viktigt med avseende på ekotoxikologiska effekter i lakvattnet, minskar med 50 % från L/S 1 till L/S 3.
- DGT-provtagare fungerar väl för att följa förändringar i tillgänglighet för katjoniska metaller i lakvatten från åldrade slaggrus.
- DGT-analyserna bekräftar bl.a. tidigare teoretiskt baserade antaganden om att huvuddelen av Al i asklakvatten vid pH 8 är kolloidalt och inte biotillgängligt.
- DGT-analyserna visar också att biotillgängligheten varierar mellan olika L/S (främst Fe och Cr) och förändras när lakvattnet späds ut med spädningsmedium i samband med biotest (alla element utom Cd).
- Den ekotoxikologiska testningen visar, i enlighet med projektgruppens tidigare studier, att K styr toxiciteten av de testade lakvattnen, medan många tungmetaller har liten inverkan.
- Försöken med K spikat till lakvatten tyder på att de toxiska effekterna av K blir mer framträdande när andra metaller finns i förhöjda bakgrunds nivåer, och att samverkans effekter inte kan uteslutas.
- Effekterna av K är subletala och framträder i form av långsammare larvutveckling. Eftersom halten av K är relaterad till salthalten och ett kräftdjur som *Nitocra* kan tåla salthalter i ett spann från nästan sötvatten till marina förhållanden, är det högst sannolikt att de effekter vi ser är relaterade till allokering av tillgängliga energiresurser för att hantera de förändrade miljöförhållandena som ökade halter av K medför. Detta betyder i sin tur att de långsiktiga effekterna (risken) av K är av mindre betydelse.
- Försök med Cu spikat till lakvatten visar inte på någon tydligt förhöjd toxicitet av Cu i närvaro av lakvatten. De små observerade skillnaderna kan förklaras med variation i biotillgänglighet och/eller osäkerhet i mätmetoden.

5 Rekommendationer och användning

Resultaten från det aktuella projektet visar att ett åldrat slaggrus med pH på ca 8 har begränsad utlakning av farliga tungmetaller samt snabbt avklingande urlakning av lösliga metaller vid låga L/S-förhållanden. Detta medförde att den observerade toxiciteten för subkroniska biotest med kräftdjuret *Nitocra spinipes* som i tidigare studier har varit mycket känsligt för asklakvatten var låg, och helt borta redan vid L/S 2. Vidare kunde den ringa toxicitet som observerades helt förklaras av kalium, som inte är klassificerat som ett miljöfarligt ämne och inte medför långsiktiga ekotoxikologiska risker. Inget annat ämne tycktes ge upphov till toxiska effekter.

Åldring av slaggrus kan rekommenderas som en metod för att minska den toxiska potentialen hos färsk slaggrus som med sitt höga pH, och därmed höga utlakning, kan ge akuta toxiska effekter på vattenlevande organismer.

6 Förslag till fortsatt forskningsarbete

De resultat som genererats i denna studie har baserats på test av ett enda slaggrus och med en enda organism. Genom att orsaken till toxiciteten har kunnat identifieras kan resultaten tillämpas även på andra slaggrus och askor. För att kunna dra mer långtgående slutsatser och bekräfta resultaten i denna studie skulle motsvarande undersökning behöva genomföras även med andra testorganismer från andra trofiska nivåer. De resultat som erhållits i denna studie kan nämligen inte med säkerhet tillämpas på andra typer av organismer.

Det slaggrus som undersökt hade genomgått en långtgående åldring innan test. Åldring av slaggrus under lång tid (flera år) är en utrymmeskrävande och därmed kostsam metod och det skulle vara värdefullt om den låga toxicitet som kunnat kvantifieras i denna studie kunde erhållas redan med en mer begränsad åldring. Det skulle därför vara värdefullt att med liknande metoder karakterisera andra slaggrus där åldringen inte var lika långt driven och där pH är något högre.

7 Litteraturreferenser

- [1] 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
- [2] Värmeforsk, 2009. Stiernström, S., Hemström, K., Wik, O., Carlsson, G., Breitholtz, M. Metodik för klassificering av H14-kriteriet i Avfallsförordningen, Stockholm 2009, Värmeforsk rapport 1092.
- [3] 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
- [4] Värmeforsk, 2011. Wik, O., Breitholtz, M., Hemström, K., Linde, M., Stiernström, S. Inverkan av laktestförhållanden, samt antagonistiska och ekotoxiska effekter av makroelement vid avfallsklassificering av askor. (rapport inlämnad för godkännande)
- [5] Moser, H., Römbke, J., (Eds), 2009: Ecotoxicological Characterization of Waste. Results and Experiences of an International Ring Test, Springer, New York, 2009
- [6] Smolders, E., Oorts, k., van Sprang, P., Schoeters, I., Janssen, C.R., McGrath S.P., McLaughlin, M.J., 2009. Toxicity of trace metals in soil as affected by soil type and aging after contamination: Using calibrated bioavailability models to set ecological soil standards, Environmental Toxicology and Chemistry, Vol.28. 8, 1633-1642.
- [7] Røjset, O., Rosseland, B.O., Kristensen, t., Kroglund, F., Aberg Garmo, Ö., Steinnes, E., 2005. Diffusive gradients in thin films sampler predicts stress in brown trout (*Salmo trutta* L.) exposed to aluminium in acid fresh waters, Environmental Science and Technology, 39, 1167-1174

-
- [8] Österlund. H., 2010. Applications of the DGT Technique for measurements of Anions and cations in Natural Waters. Licentiate Thesis, Luleå University of Technology, Department of Chemical Engineering and Geosciences.
- [9] Forsberg. J., 2005. Trace Metal Speciation in Fresh and Brackish Waters Using Ultrafiltration DGT and Transplanted Aquatic Moss. Licentiate Thesis, Luleå University of Technology, Department of Chemical Engineering and Geosciences.
- [10] Flyhammar, P., Bendz, D., Hartlén, J., Grönholm, R. 2004. Lagring av slaggrus Rapport 1 Slaggrusets åldrande – Spatiella variationer i en konventionell lagringshög, Sysav Utveckling AB, Februari 2004.
- [11] 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(10), 879-886.
- [12] Breitholtz, M., Ricklund N., Bengtsson, B.-E., Persson N.J., 2007. Silica gel as a particulate carrier of poorly water-soluble substances in aquatic toxicity testing. Aquatic Toxicology 82(4), 251-264.
- [13] Värmeforsk, 2006. Olsson, S., Gustafsson J.P., Van Schaik. J., Berggren Kleja. D., van Hees. P.,. Kopparformer i lakvatten från energiaskor, Värmeforsk rapport 962.
- [14] Imlay. M., 1973. Effects of potassium on survival and distribution of freshwater mussels. Malacologia 12. 61-69.
- [15] Fisher. S.W., Stromberg. P., Bruner. K.A., Boulet. L.D., 1991. Molluskicidal activity of potassium to the zebra mussel. *Dreissena polymorpha*: toxicity and mode of action. Aquatic Toxicology 20. 219-234.
- [16] 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.

- [17] Douglas. W.S., Horne. M.T., 1997. The interactive effects of essential ions and salinity on the survival of *Mysidopsis bahia* in 96-h acute tests of effluents discharge to marine and estuarine receiving waters. *Environmental Toxicology and Chemistry* 16. 1996-2001.
- [18] 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.
- [19] Romano. N., Zeng. C., 2009. (Sub)chronic exposure to nitrite, potassium and their combination on survival, growth, total haemocyte count and gill structure of juvenile blue swimmer crabs *Portunus pelagicus*. *Environment and Environmental Safety*. 72. 1287-1295.
- [20] Noodt, W., 1970. Zur ökologie der Copepoda Harpacticoidea des Küstengebietes von Tvärminne (Finnland). *Acta Zool. Fennica* 128, 1-35.
- [21] Wulff, F., 1972. Experimental studies on physiological and behavioural response mechanism of *Nitocra spinipes* (Crustacea: Harpacticoidea) from brackish-water rockpools. *International Journal on Life in Oceans and Coastal Waters* 13(4), 325-329.

Bilagor

A Validitetsparametrar ekotoxikologisk testning och efterföljande DGT-analys

Tabell A.1 Validitetsparametrar (pH, syremättnad och salinitet) i inkommande prov för ekotoxikologisk testning.

Parametrar	L/S 1	L/S 2	L/S 3
pH (före salthaltsjustering)	7.8	8.1	7.9
pH (efter salthaltsjustering)	7.9	8.1	7.9
salinitet ‰ efter justering	5.9	6	5.8
syre % efter luftning	90	98	93

Tabell A.2 Validitetsparametrar (pH, syremättnad och salinitet) under ekotoxikologisk testning.

Parametrar	kontroll GF/C	L/S1, 0,5 %	L/S1, 40,5 %
pH dag 3	8.3	8.3	8.3
pH avslut	8.2	8.4	8.3
salinitet ‰ dag 3	6.1	6	6.1
salinitet ‰ avslut	6.1	5.9	6
syre % dag 3	88	89	87
syre % avslut	95	100	92

Parametrar	L/S2, 0,5 %	L/S2, 40,5 %	L/S3, 0,5 %	L/S3, 40,5 %
pH dag 3	saknas	saknas	8	8
pH avslut	8.1	8.1	7.9	8
salinitet ‰ dag 3	saknas	saknas	5.8	5.8
salinitet ‰ avslut	5.8	5.9	6	6
syre % dag 3	saknas	saknas	95	92
syre % avslut	100	96	101	96

Parametrar	L/S3 40,5 % + Cu 60 ug/L	L/S3 40,5 % + Cu 240 ug/L	L/S3 + K 35 mg/L	L/S3 + K 315 mg/L
pH dag 3	saknas	saknas	8.1	8.1
pH avslut	7.9	7.9	8	8
salinitet ‰ dag 3	6.1	6.1	6.1	6.6
salinitet ‰ avslut	6.1	6.1	6.1	6.7
syre % dag 3	89	92	94	93
syre % avslut	103	88	91	105

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