

SFT-rapport 1750/2000

## **Økotoksikologisk risikovurdering**

Del I: Økotoksikologisk undersøkelse av industriavløp

## Økotoksikologisk risikovurdering.

### Del I: Økotoksikologisk undersøkelse av industriavløp

#### Innhold

INNLEDNING .....	3
Formålet med veiledningen .....	3
Bruksområder og erfaringer .....	3
1. ØKOTOKSIKOLOGISKE PRINSIPPER OG STRATEGIER.....	5
Grunnleggende prinsipper .....	5
Definisjon av økotoksikologiske begreper .....	6
Generelt om økotoksikologisk undersøkelsesprogram.....	8
Basisinformasjon .....	10
Kjemisk og fysisk karakterisering av forurensningsutslipp og resipient.....	11
Biologisk nedbrytbarhet .....	15
Bioakkumulerbarhet .....	18
Økotoksisitet (giftighet i miljøet).....	20
3. PRINSIPPER FOR VURDERING AV RESULTATER .....	24
Innhold av stoffer og stoffgrupper.....	24
Avløpsvannets toksisitet.....	25
Risiko for effekter i resipienten.....	26
<i>Beregning av PEC</i> .....	27
<i>Beregning av PNEC</i> .....	27
<i>Risikovurdering</i> .....	28
Nyttig litteratur .....	29
4. BIOMARKØRER .....	30
5. PRØVETAKING OG BEHANDLING AV PRØVER .....	31
Generelt .....	31
Prøvetakingsmetoder .....	31
Prøvetakingspunkt og prøvetakingsted .....	32
Prøvetaking og prøvetakingssutstyr .....	32
Prøvetakingsfrekvens .....	33
Prøvevolum .....	33
Lagring av prøver .....	33
6. KRAV TIL RAPPORTERING .....	34
ORDFORKLARINGER OG FORKORTELSER .....	36

## INNLEDNING

### Formålet med veiledningen

Denne veiledningen er ment å være en orientering for saksbehandlere i SFT for å øke forståelsen for økotoksikologiske undersøkelser og underlette kommunikasjonen med bedrifter og konsulenter ved planlegging og gjennomføring av økotoksikologiske testprogrammer i forbindelse med miljørisikovurdering av industriavløp.

Før utforming av et testprogram bør all tilgjengelig informasjon om forurensnings-situasjonen samles inn og vurderes. Deretter bestemmes økotokstestprogrammets omfang. Et omfattende testprogram kan bli forholdsvis dyrt, og ambisjonsnivået vil ofte måtte tilpasses de økonomiske rammene. Det er allikevel viktig at resultatene fra et testprogram er beskrivende for den aktuelle situasjonen og at de kan brukes av SFTs saksbehandlere som grunnlag for å ta beslutninger.

Gjennomføringen av en miljørisikovurdering basert på et økotoksikologisk testprogram innebærer faglige vurderinger og avveininger. Alle leddene i testprogram, fra planlegging og prøvetaking til resultatgenerering, er viktige og bør utføres av faglig kompetente miljøer, eller i det minste, i samråd med fagmiljøene.

### Bruksområder og erfaringer

Utvikling av humantoksikologiske og økotoksikologiske testmetoder og modeller har pågått helt siden etter 1940-tallet. I Europa og USA har det opp gjennom 1980-årene vært en økende interesse for bruk av økotoksikologiske undersøkelser også til karakterisering av industriavløpsvann. I flere land, bl.a. Danmark, Sverige, Tyskland, USA og Canada, har miljømyndighetene utarbeidet tekniske veiledninger for økotoksikologisk karakterisering av industriavløp. Noen eksempler på bruk av økotoksikologiske tester i andre land er beskrevet i vedlegg 1.

Nedenfor er de vanligste bruksområdene i Norge listet opp:

- Faglig vurdering ved regulering og godkjenning av kjemikalier:
  - Offshoreindustrien (se vedlegg 2).
  - Miljøklassifisering av stoffer.
  - Risikovurdering av nye og eksisterende kjemikalier (Samarbeid innen EØS).
- Kartlegging og miljøvurdering av utslipp av kjemikalier og avløpsvann fra industrien.
- Kartlegging og miljøvurdering av forurenset grunn og sedimenter.

Kartlegging og miljøvurdering av utslipp av kjemikalier og avløpsvann fra industrien forekommer idag i hovedsak i forbindelse med konsesjonsbehandling av bedrifter, og resultatene fra økotoksikologiske undersøkelser brukes til å bestemme akseptable utslippsmengder for forurensningsutslipp til akvatisk miljø. Økotoksikologiske testdata som utslippssparameter i utslippstillatelsene har foreløpig ikke blitt brukt.

I en konsesjonsbehandling, også i andre sammenheng, kan det være viktig å se forurensningsutslippenes farlighet i en større sammenheng. En vanlig innfallsvinkel er da å sammenligne utslippsmengdene per tidsenhet eller produksjonsenhet (f.eks. kg Pb/år,

tonn SO<sub>4</sub>/tonn produkt), i en bransje eller for industriprosesser av lignende type, o.l. På lik linje kan man bruke toksisitetsdata for å sammenligne ulike industrikilders toksiske utslipp med hverandre. Toksistetdataene må da omregnes til ”toksitetsekvivalenter” (TEQ) for de ulike kildene (se kap.3).

I tillegg til miljøvurderinger i forbindelse med konsesjonsbehandling kan økologiske testdata også brukes for å beskrive hvordan industriavløp endres over tid som følge av endringer i prosessen, f.eks. som et resultat av tillempling av substitusjons-prinsippet (miljøfarlige innsatsstoffer skal erstattes med mindre miljøfarlige stoffer). Dette vil være særlig nyttig i de tilfeller der industriavløpets sammensetning er så kompleks at man ikke har kjennskap til hvilke komponenter som er giftige, eller når disse komponentene er vanskelige å analysere kjemisk.

# 1. ØKOTOKSIKOLOGISKE PRINSIPPER OG STRATEGIER

## Grunnleggende prinsipper

Et hvert forurensningsutslipp, f.eks. avløpsvann fra industrien, vil påvirke forholdene i resipienten. Ved regulering av utslippet må man vurdere hvor stor forurensningspåvirkning som kan aksepteres. Dette vil være avgjørende for hvilke utslippsmengder som kan tillates, dvs. hvor mye forurensningskomponentene i utslippet må reduseres for at utslippssituasjonen blir miljømessig akseptabel.

Et utslipp vil ofte inneholde forurensningskomponenter i slike konsentrasjoner at de påfører resipienten skader i utslippspunktet og dets umiddelbare nærhet. Rundt utslippspunktet oppstår et område, en sone, der utslippet ennå er så ufortynnet og forurensningskonsentrasjonene så høye at organismene i resipienten vil kunne påføres en akutt forgiftning. Denne sonen kalles for influensområde for akutte effekter (se figur 1).

Utenfor influensområdet for akutte effekter vil man få et nærområde der avløpsvannet har blitt forfortynnet såpass at forurensningskonsentrasjonen er for lav til å gi akutte toksiske skader, men der organismer over et lengre tidsrom vil kunne påføres kroniske toksiske skader (influensområde for kroniske effekter). Enda lengre bort fra utslippspunktet vil industriavløpsvannet bli forfortynnet så mye at sannsynligheten for kroniske toksiske effekter er liten, dvs. avløpsvannet har oppnådd sin såkalte null-effekt konsentrasjon (NEC).

En hel økotoksikologisk risikovurdering går ut på å undersøke størrelse av influensområdene i resipienten. Saksbehandlerens oppgave er deretter, vha. all den informasjon som foreligger om industriutslippets og resipientens egenskaper, å bestemme hvor store influensområder for akutte og kroniske effekter som kan aksepteres og på denne bakgrunn fastsette utslippskrav.

For å kunne gjøre en risikovurderingen trengs informasjon om forurensningsutslippets egenskaper og om dets påvirkning på resipienten. Dersom denne informasjon ikke foreligger, må det gjennomføres et økotoksikologisk undersøkelsesprogram for å fremskaffe dette.

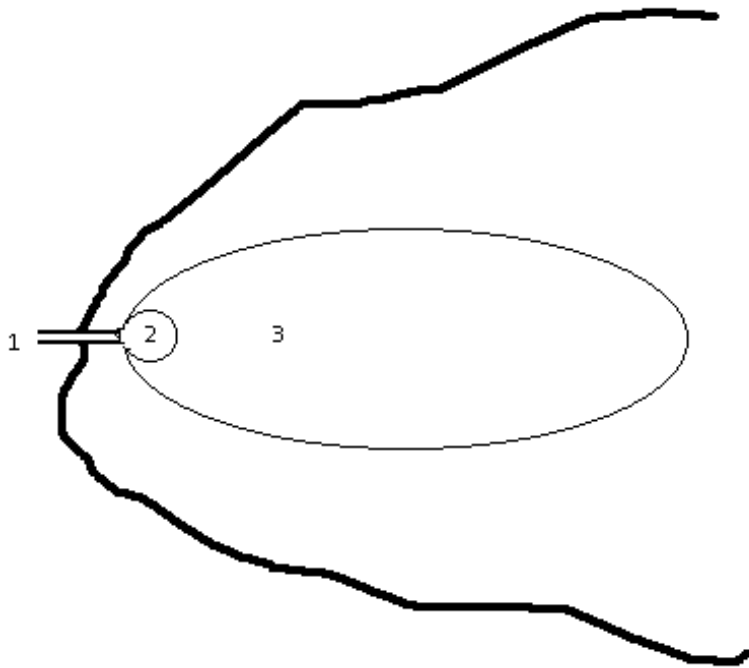
De "verktøy" som idag finnes tilgjengelige for å anslå påvirkningen og risikoen av et utslipp i en vannresipient er å måle dets giftighet samt beregne effektkonsentrasjoner (f.eks. EC<sub>50</sub>, LC<sub>50</sub>, etc som måles vha økotoksikologiske tester), måle utslippskomponentenes nedbrytbarhet og bioakkumulerbarhet, foreta kjemisk analyse av utslippskomponentene, samt å beregne forurensningskomponentenes spredning i resipienten f.eks. vha spredningsmodeller.

I et økotoksikologisk undersøkelsesprogram bør alle parametrene nevnt ovenfor inngå, dvs. kartlegging av forurensningsutslippets sammensetning, av forurensningskomponentenes spredning i resipienten og deres effekt på miljøet i resipienten.

Det anbefales at et undersøkelsesprogram bygges opp trinnvis med to ambisjonsnivåer (se figur 2). Undersøkelsene ved hvert nivå skal utdype den informasjon som er fremskaffet på nivået under. Hvilket nivå som velges for å undersøke de ulike parametrene i risikovurderingen (dvs. kjemiske/fysiske analyser, bioakkumulerbarhet, nedbrytbarhet og

toksisitet) vil være avhengig av hvilken informasjon som allerede foreligger om forurensningsutslippets miljøfare og resipientens egenskaper.

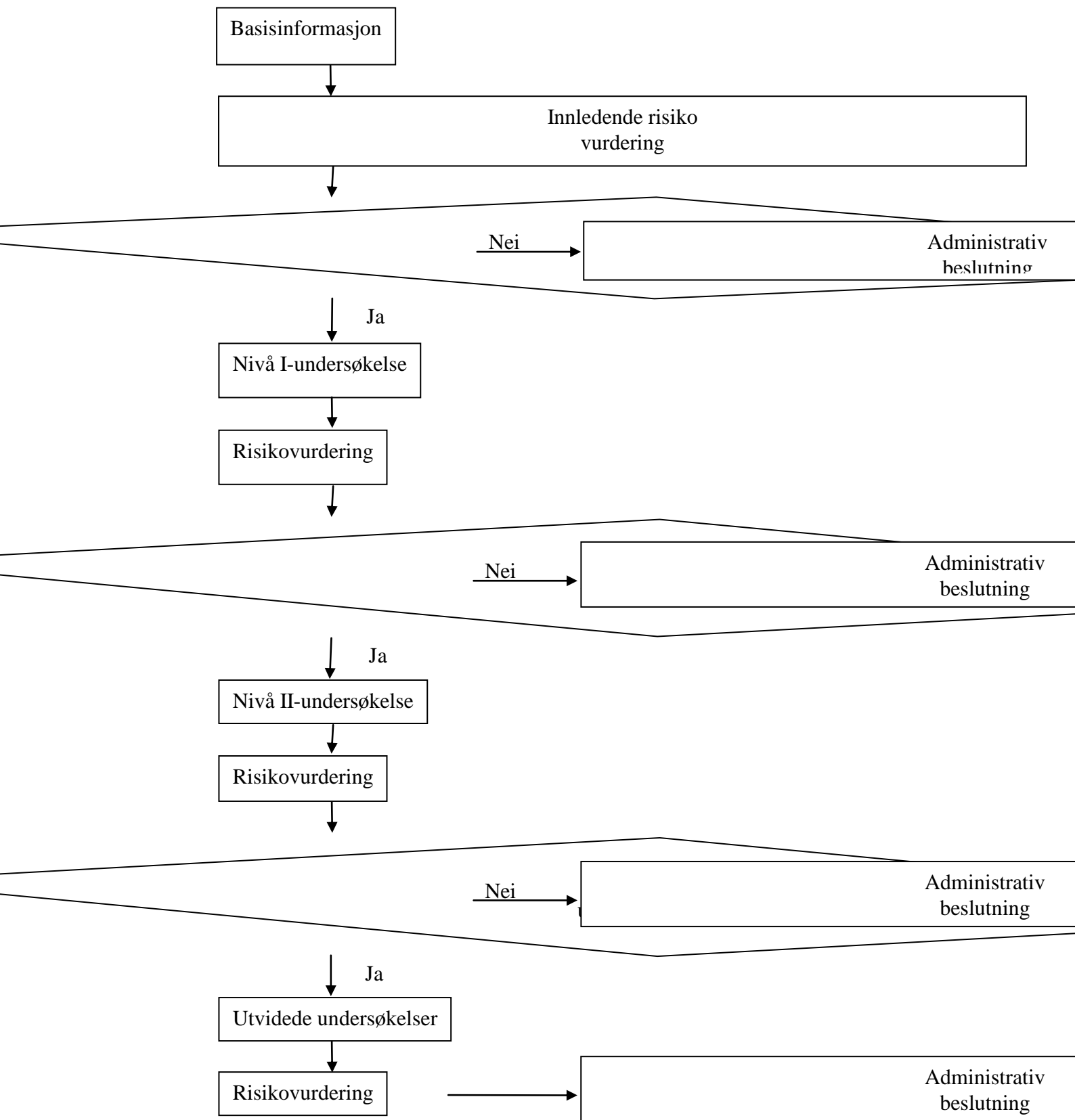
Dersom undersøkelsesprogrammet ikke frembringer ønsket resultat, bør en vurdere behovet for å fortsette med mer omfattende undersøkelser.



Figur 1: Utslipp av industriavløpsvann i en resipient. 1. utslippspunkt; 2. influensområdet for akutte effekter; 3. influensområdet for kroniske effekter.

### **Definisjon av økotoksikologiske begreper**

Toksikologiske begreper er definert i Kort innføring i toksikologi, Økotoksikologisk veiledning, Del II.



Figur 2: Flytdiagram for et nivådelt undersøkelsesprogram

## **2. ØKOTOKSIKOLOGISK KARAKTERISERING; UNDERSØKELSESPROGRAM, ANALYSE- OG TESTMETODER**

### **Generelt om økotoksikologisk undersøkelsesprogram**

Et forurensningsutslipp, f.eks. et industriavløpsvann, består vanligvis av en kompleks blanding av mange forskjellige kjemiske enkeltstoffer, til dels ukjente, som hver for seg har miljøeffekter. Blandingsforholdene mellom de kjemiske komponentene kan variere over tid, f.eks. som følge av variasjoner i en industriprosess. Dette samt at man ennå mangler tilstrekkelig kunnskap om mange kjemiske stoffers videre skjebne i naturen, fører lett til at en miljørisikovurdering av industriutslipp blir beheftet med forholdsmessig stor usikkerhet. Økotoksikologiske testmetoder er et hjelpemiddel for å vurdere avløpsvannets miljøeffekter. Fordeler med slike metoder er at de kan brukes selv om avløpsvannets kjemiske sammensetning ikke er kjent, og at de gir informasjon om forurensningskomponentenes samlede effekt. Det er imidlertid viktig å være klar over at forholdsvis enkle laboratorietester ikke kan gi et fullstendig bilde av skjebne og effekter til forurensningskomponenter i miljøet.

En karakterisering av miljørisikoen til et forurensningsutslipp gjøres ved å:

1. Bestemme "dose-respons"-forhold for avløpsvannet, dvs. konsentrasjonsavhengighet av ulike toksiske effekter for avløpsvannet eller komponenter i avløpsvannet.
2. Beregne avløpsvannets fordeling i tid og rom i resipienten
3. Bedømme omfang og utbredelse av ulike toksiske effekter i resipienten

I tillegg til toksisitet er informasjon om nedbrytbarhet og bioakkumulerbarhet til komponenter i avløpsvannet viktig for å vurdere fare for langsiktige skadevirkninger i miljøet. Persistente bioakkumulerbare komponenter bør begrenses selv om risikovurderingen ikke indikerer toksiske effekter i resipienten.

For å få best mulig resultat av en miljørisikoundersøkelse er det viktig at undersøkelsesprogrammet blir grundig planlagt. Programmet bør bygges opp trinnvis slik at det får det omfang som er mest hensiktsmessig. Det er viktig at programmet får en slik form at resultatene kan brukes til å ta de nødvendige forvaltningsmessige beslutningene, f.eks. om det er det nødvendig med gjennomføring av tiltak.

All tilgjengelig informasjon som finnes om utslippet og resipienten bør samles inn og vurderes før testprogrammet utformes. Deretter lages en plan for gjennomføringen av programmet, dvs. man bestemmer hvilke tester og analyser som skal benyttes videre. For å kunne sammenligne resultater, anbefales at man bruker mest mulig etablerte tester og analyser, og ev. at programmet utformes mest mulig i overensstemmelse med tidligere undersøkelser. På denne måten vil man i større grad kunne dra nytte av tidligere erfaringer samt bygge opp datamateriale for senere å kunne foreta sammenligninger.

Analyser og tester innenfor følgende områder bør inngå i et testprogram:

1. Fysiske og kjemiske analyser.
2. Analyser av forurensningskomponentenes spredning og fordeling i resipienten



3. Tester for å bestemme forurensningskomponentenes biologiske nedbrytbarhet.
4. Tester for å bestemme forurensningskomponentenes bioakkumulerbarhet. Tester for å bestemme avløpsvannets toksiske effekter

Det anbefales at undersøkelsene begynner på nivå I med de enkleste analysene og testene. Dersom disse ikke gir den nødvendige informasjonen, fortsettes på neste nivå med supplerende og mer omfattende undersøkelser innenfor de områdene (kjemiske analyser, bionedbrytbarhet, bioakkumulerbarhet, toksiske effekter) man trenger mer kunnskap om.

Nivå	Beskrivelse
Basisinformasjon	Problemdefinering, behovsvurdering og innsamling av tilgjengelig data.
Nivå I	Avklarende undersøkelser.
Nivå II	Utvidete undersøkelser.

Hvilket test og analysenivå som skal brukes for hver av de 5 analyse/testområdene må bestemmes fra tilfelle til tilfelle, avhengig av hvilken informasjon som er nødvendig og hvilket problemet som skal løses. På denne måten får man et fleksibelt og kostnadseffektivt undersøkelsesprogram, som skreddersys for hvert enkelt tilfelle. Ved å bruke standardiserte tester kan programmet allikevel bli tilstrekkelig "standardisert" slik at man til en viss grad kan sammenligne resultater og bruke tidligere erfaringer.

Det anbefalte undersøkelsesprogrammet er skjematisk framstilt i tabell 1 nedenfor.

**Tabell 1:** Anbefalt undersøkelsesprogram som grunnlag for en økotoksikologisk risikovurdering.

Test	Basisinformasjon	Nivå I	Nivå II
<b>Fysisk- og kjemisk karakterisering</b>	Historiske data. Prosessforhold. Resipientforhold.	Fysisk-kjemisk karakterisering: -fysiske parametre -kjemiske samleparametre	Videre fysisk-kjemisk karakterisering: -prosessrelaterte måleparametre -kjemiske analyser av enkeltstoffer -kjemiske analyser av avløpsfraksjoner
<b>Spredning og fordeling</b>	Historiske data. Litteraturdata. o.l.	Enkle sprednings-modeller.	Spredningsmodeller
<b>Biologisk nedbrytbarhet</b>	Historiske data. Litteraturdata. o.l.	Biologisk nedbrytbarhet.	1. Testing av avløps-fraksjoner. Valg av test(er) vurderes i hvert tilfelle.  2. Analyser av restproduktet fra nedbrytbarhetstest (nivå I): -biologiske effekter/toksisitet -kjemisk karakterisering
<b>Bioakkumulerbarhet</b>	Historiske data. Litteraturdata. o.l.	Potensiell bioakkumulerbarhet (log Pow, BSC)	1. Testing av avløpsfraksjoner. Valg av test(er) vurderes i hvert tilfelle.  2. Kjemisk karakterisering av potensielle bioakkumulerbare stoffer.
<b>Toksisitet</b>	Historiske data. Litteraturdata. o.l.	L(E)C <sub>50</sub> -test på organismer fra 3 trofiske nivåer (alge, krepsdyr og fisk). Bruk av økologisk relevante testorganismer.	1. Ytterligere L(E)C <sub>50</sub> -tester.  2. Test for kronisk toksisitet  3. Testing av avløpsfraksjoner. Valg av test(er) vurderes i hvert tilfelle.

Dersom det anbefalte undersøkelsesprogrammet ikke frembringer den informasjon som er nødvendig for å ta beslutninger, kan man utvide undersøkelsene og foreta grundigere studier,

f.eks. i felt. Slike undersøkelser kan være kontinuerlig overvåking av fysiske eller kjemiske parametre over en tidsperiode, bruk av sporstoffer til spredningsanalyser eller bioakkumuleringsundersøkelser, utplassering av testorganismer i felt, undersøkelse av biomarkører, toksisitetstesting på lokale arter, etc.

Et økotoksikologisk undersøkelsesprogram bør inneholde et tilstrekkelig antall tester og analyser for å redusere usikkerheten i resultatene. I planleggingen av et program bør dette vurderes nøye, fordi mange tester og analyser er forholdsvis dyre å gjennomføre. Samtidig gjelder at dersom usikkerheten i resultatene blir for stor, kan undersøkelsen bli mer eller mindre verdiløs fordi den ikke bringer frem den informasjon som saksbehandleren behøver for å kunne ta sine avgjørelser.

For at testene og analysene skal kunne gi brukbare resultat må prøvene som testes/analyseres være representative for den utslippsituasjon som skal vurderes. En god prøvetakingsstrategi er derfor viktig, og det må tas hensyn til variasjoner både i utslippene og i resipienten (se kap. 5).

### **Basisinformasjon**

Med undersøkelsesprogrammets basisinformasjon menes den samlede informasjonen som allerede finnes tilgjengelig om forurensningsutslippet og forholdene i resipienten. For industriavløp kan man ut fra prosestetniske forhold vurdere hvilke forurensningskomponenter som inngår i avløpet og anslå utslippsmengdene. På bakgrunn av denne informasjon bør man prøve å gjøre en innledende vurdering av miljøeffektene. Mye tid og ressurser kan spares ved å innhente relevante opplysninger og systematisere dem slik at man på et tidlig tidspunkt får en klar forståelse av problemets art og omfang.

Basisinformasjonen kan gi et grovt bilde av utslippet og dets miljøkonsekvenser. Dersom utslippets komponenter fra før er tilstrekkelig dokumentert med hensyn på økotoksikologiske egenskaper kan dette være nok underlag for den videre saksbehandlingen.

Dersom det er nødvendig med mer informasjon, må det gjennomføres et undersøkelsesprogram (se tabell 1).

Når forurensningsutslippet er et industriavløp anbefales at følgende informasjon hentes om forurensningskilden og resipienten:

- Om industriprosessen:
  - a) Hvilken industriprosess brukes?
  - b) Skjer prosessen satsvis eller kontinuerlig?
  - c) Hvilke råvarer, kjemikalier og hjelpestoffer inngår i prosessen?
  - d) Hvilke forurensningskomponenter finnes i utslippet? (Ved grundig kjemisk karakterisering av utslipp er det vist at mer enn 1/4 av stoffene ofte ikke er kjent på forhånd).
  - e) Dannes det nye forurensningskomponenter i prosessen som følger utslippet?
  - f) Hvordan behandles avløpsvannet før utslipp? (rensanlegg, utjevningsbasseng etc.)

- Om utslippskomponentenes iboende egenskaper:
  - a) Finnes det dokumentert økotoksikologisk informasjon i litteraturen om utslippstoffenes toksisitet, bioakkumulerbarhet, nedbrytbarhet?
  - b) Kan noen av stoffene i utslippet virke sammen (additiv-, antagonistisk- eller synergistisk effekt)?
- Om resipienten:
  - a) Ledes utslippet til ferskvann, brakkvann eller sjøvann?
  - b) Hvordan er nåværende vannkvalitet og biologiske samfunn?
  - c) Hvordan er strøm- og spredningsforholdene?
  - d) Hvordan påvirkes utslippskomponentene av forholdene i resipienten?
  - e) Hvilke brukerinteresser er knyttet til resipienten?
- Tidligere erfaring:
  - a) Finnes det erfaringer eller undersøkelser for tilsvarende industriavløp eller forurensningsutslipp?

Det kan ofte være tidkrevende å finne relevante opplysninger om egenskaper til forurensningsforbindelsene. Foruten litteratur og oppslagsverk innen området er det utviklet en rekke databaser som enten er direkte koblet til on-line datasystemer (CHEMTOX Online, IUCLID, Tox-line, m.fl.) eller kan søkes opp på CD-rom (HSDB, IRIS, m.fl.). Databaser er et nyttig verktøy for raskt å skaffe opplysninger om enkeltstoffers kjemiske egenskaper, nedbrytbarhet, bioakkumulerende egenskaper og giftighet ovenfor ulike organismer.

### **Kjemisk og fysisk karakterisering av forurensningsutslipp og resipient**

I en økotoksikologisk undersøkelse av forurensningsutslipp må man kjenne utslippet kjemiske sammensetning og forholdene i resipienten. Dvs. i tillegg til kjennskap om hvilke utslippskomponentene som finnes i et avløp, må man ha informasjon om temperatur, surhet (pH), saltholdighet (salinitet), tidsvariasjoner o.l., både i utslippet og i resipienten.

Det kjemisk/fysikalsk analysenivået bestemmes av den informasjon som trengs for å kunne gjennomføre miljørisikovurderingen. Vanligvis begynner man på nivå I og utvider undersøkelsene alt etter behovet for mer informasjon (se nedenfor).

Basis-informasjon	Nivå I	Nivå II
Innsamling av data: <ul style="list-style-type: none"> <li>• historiske data,</li> <li>• prosessforhold,</li> <li>• utslippsforhold</li> <li>• resipienten- forhold</li> </ul>	Grunnundersøkelser: <ul style="list-style-type: none"> <li>• fysiske parametre (temperatur, mm)</li> <li>• kjemiske samleparametere</li> </ul>	Videre karakterisering: <ul style="list-style-type: none"> <li>• prosessrelaterte måleparametere</li> <li>• kjemiske analyser av enkeltstoffer</li> <li>• kjemiske analyser av avløpsfraksjoner</li> </ul>

Det er vanlig å foreta kjemiske analyser av et forurensningsutslipp for å få informasjon om de viktigste forurensningskomponentene. Det er ofte ikke mulig å få en full oversikt over alle de ulike kjemiske forbindelsene i et utslipp fordi noen komponenter er vanskelige å analysere. Å identifisere ukjente stoffer i en kompleks blanding, samt å bestemme mengdene, kan være meget ressurskrevende og dermed kostnadskrevende.

De kjemiske analysene kan gjennomføres trinnvis på den måten at man først analyserer med mindre spesifikke metoder, f.eks. bestemmer samleparametere som TOC, AOX, EOX, EOCl eller lignende (se Ordforklaringer og forkortelser, og vedlegg 3). Denne type analyser vil kunne gi et grovt bilde av utslippets sammensetning og de er forholdsvis rimelige. Behøves ytterligere informasjon må man gjennomføre spesialanalyser, dvs identifisere en eller flere av forurensningskomponentene og bestemme mengdene. Dersom utslippet ventes å inneholde vesentlige enkeltstoffer, f.eks. tungmetaller bør disse også inngå i Nivå I av analyseprogrammet. Analyser av enkeltstoffer, særlig dersom man skal identifisere ukjente forbindelser, kan være forholdsvis ressurskrevende.

Analyse av samleparametere gir informasjon om hvor store mengder av enkelte stoffgrupper som finnes i prøven, dvs. i utslippet da prøven ble tatt. En samleparameter gir vanligvis ingen informasjon om hvilke enkelte kjemiske forbindelser som finnes i prøven, men kun om hvilke typer forbindelser (stoffgrupper). Derfor kan man vanligvis ikke sammenligne resultatene fra samleparameteranalyser, med mindre man vet at den kjemiske sammensetningen i alle prøvene er den samme. Vanlige samleparametere er listet opp i tabellen nedenfor. For videre informasjon, se vedlegg 3.

Enkeltstoff-analyser betyr at man analyserer hver enkelt kjemisk forbindelse for seg. Noen organiske miljøgifter, slik som PAH, PCB og dioksiner, består av en hel gruppe med forbindelser som alle analyseres i en og samme analyse, og resultatet rapporteres ofte som total mengde for hele gruppen. Dersom man skal sammenligne analyseresultater fra slike miljøgiftanalyser, må man sikre seg at analysedataene inneholder de samme forbindelsene og i de samme forhold. Dette er særlig viktig for PAH, en miljøgiftgruppe som ikke ennå er godt definert. For videre informasjon, se vedlegg 3.

Så langt det er mulig bør de kjemiske analysene utføres av laboratorier som er akkreditert i henhold til standarder, f.eks. EN 45 000, eller godkjent etter OECDs GLP-ordning (God laboratoriepraksis). Dersom det ikke finnes laboratorier som er sertifisert eller akkreditert for de aktuelle analyseparametrene, bør laboratoriene kunne dokumentere sin kvalitetssikring på annen måte, f.eks. sertifisering etter en av standardene i ISO 9000 serien eller gjennom å fremvise akseptable resultater fra interkalibreringer.

Eksempler på fysiske og kjemiske analyseparametere som kan være aktuelle å bestemme i et økotoksikologisk undersøkelsesprogram:

Fysiske/kjemiske parametre	Kjemiske samleparametre	Enkeltstoffer
pH	TOC (eller KOF)	Metaller
Temperatur (°C)	BOF	Klororganiske forbindelser
Saltholdighet	Suspendert stoff (ss)	PCB, dioksiner
Oksygeninnhold	AOX	PAH
Ledningsevne	EOCl, EOX	Fenoler
Tetthet	Nitrogen (N <sub>tot</sub> )	Diverse organiske forbindelser (f.eks. "priority pollutants")
	Fosfor (P <sub>tot</sub> )	Ammonium

Alle kjemiske og fysiske analyseresultater har en viss grad av usikkerhet. Usikkerheten består både av den usikkerhet som skyldes prøvetakingen og usikkerheten i selve analysene. Som regel er usikkerheten som skyldes prøvetakingen større enn den som skyldes analysene.

Prøvetakingsusikkerheten oppstår som følge av at det kan være vanskelig å ta prøver som er tilstrekkelig representative for de gjeldende forholdene, og fordi innholdet i prøven kan endre seg under lagring og opparbeiding til analysen.

Usikkerheten som skyldes prøvetakingen må vurderes i hvert enkelt tilfelle. Usikkerheten i laboratorieanalysene oppgis vanligvis av laboratoriene sammen med resultatene.

Er resultatene beheftet med altfor stor usikkerhet kan de bli verdiløse. Usikkerheten kan reduseres ved å analysere flere prøver. I planleggingen av et undersøkelsesprogram bør derfor antallet prøveanalyser diskuteres. Dersom forurensningsforholdene endres over tid eller i takt med årstidene, er det nødvendig med flere prøver enn i de tilfeller der forholdene er stabile.

### **Spredning av forurensningskomponenter i resipienten**

For å kunne vurdere miljørisikoen til et forurensningsutslipp er det nødvendig å ha kjennskap til forurensningseksposeringen i de ulike delene av resipienten, som følge av at forurensningskomponentene spres i resipienten. Spredningen kan bestemmes enten ved å foreta kjemiske analyser i resipienten eller, vanligere, anslås vha spredningsberegninger. Til spredningsberegningen brukes modeller. Det finnes ulike typer spredningsmodeller, mer eller mindre avanserte. Hvilken spredningsmodell som skal velges vil bl.a. styres av hvilke resipientforhold som skal beskrives, dvs. av forurensningsutslippets art og resipientens kompleksitet.

Følgende nivåer av spredningsberegninger anbefales:

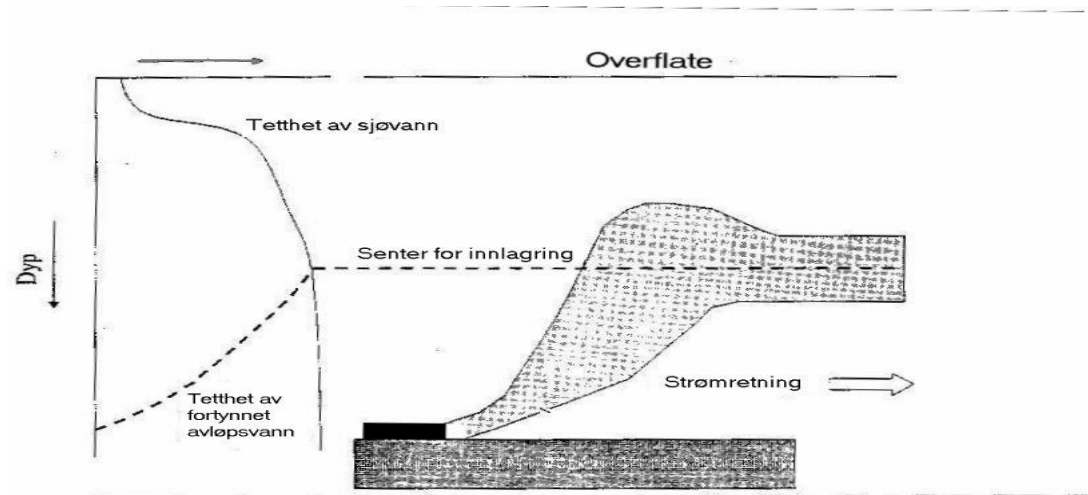
<b>Basisinformasjon</b>	<b>Nivå I</b>	<b>Nivå II</b>
Innsamling av litteraturredata, historiske data o.l.	Bruk av enkle spredningsmodeller.	Bruk av avanserte spredningsmodeller.

Når spredningsbildet skal beskrives er det ofte nyttig å få en beskrivelse både av den situasjonen som gjelder under normale forhold og av den verste mulig situasjonen som kan oppstå ("worst case").

Hvis spredningsmodellene ikke kan beskrive spredningsforholdene tilstrekkelig, kan mer avanserte undersøkelser foretas, f.eks. målinger i felt, evt. med bruk av sporstoffer.

#### *Initialfortynning og innlagring av et dykket utslipp*

I en resipient vil et tilført forurensningutslipp, f.eks. avløpsvann, i løpet av noen få "tillimetre" kunne blandes betydelig med vannet i resipienten og innlagres i et gitt dyp. Denne initialfortynningen og tilhørende innlagringsdyp er avhengig av tettheten i avløpsvannet og i resipientvannet, samt av utslippsstrålens fart og dybde. Et dykket utslipp med stor strålehastighet (jetstråle) kan f.eks. føre til innlagring på dypt vann og en initialfortynning på hundre ganger. Dersom avløpsvannet renner langsomt ut, kan strålen trenge opp til overflaten uten nevneverdig initialfortynning. Det er vanlig å bygge en diffusor (rør med ett eller flere hull i) på avløpsrør for å øke farten på utslippsstrålen og dermed sikre seg en økt initialfortynning og innlagring på dypt vann (se figur 3).



Figur 3: Generelt bilde av hvordan avløpsvann innlagres i en lagdelt vannmasse

#### *Strøm og spredning*

Strømmene i resipienten blir i hovedsak satt i gang av vind og trykkrefter som følge av skrånende overflate pga. vannføring inn og ut av resipienten. Når bevegelser er kommet i gang blir strømmen avbøyd til høyre pga. jordrotasjonen, og påvirket av resipientens form.

For en innsjø vil en typisk situasjon være en strøm i overflaten til høyre for vindretningen, nedadrettet strøm langs strendene med pålandsstrøm og en returstrøm på dypt vann. I en elv vil vanligvis trykkgradienter være såpass dominerende at vi kan se bort i fra vindeffekten.

Stoff som tilføres resipienten følger strømmenes hovedretning (advektiv transport). I tillegg blir det spredd til sidene ved å følge uregelmessige virvellignende bevegelser (turbulent transport).

I en innsjø vil f.eks. et kontinuerlig utslipp av et stoff som ikke omdannes i resipienten (konservativt stoff) spres med de høyeste konsentrasjonene i strømmens hovedretning, mens utbredelsen vinkelrett på hovedretningen avhenger av turbulente virvler. En elv vil vanligvis være tilstrekkelig turbulent til at stoffet blir jevnt fordelt i hele tverrsnittet. I strykpartier skjer dette nærmest momentant.

#### *Andre spredningsprosesser*

I tillegg til fortykning kan stoffkonsentrasjonene i utslippet reduseres ved å inngå i fysiske, kjemiske og biologiske prosesser. Vanlige prosesser er nedbrytning og sedimentasjon. Enkelte stoffer som adsorberes på partikler får et spredningsforløp som er avhengig av

partikkelkonsentrasjon og sedimentasjonsforløpet til partiklene. F.eks. vil tungt nedbrytbare komponenter som adsorberes på partikler (f.eks. fettløselige miljøgifter) etterhvert havne i sedimentene. Sedimentene utgjør det endelige lagringstedet i naturen for vanskelig nedbrytbare (persistente) kjemiske forbindelser.

Stoffer kan også adsorberes på kolloider og følge kolloidenes bevegelser. Kolloider er partikler som er så små at de ikke sedimenterer og som passerer gjennom vanlige filtrere ved filtrering. En vanlige kjemiske prosess som reduserer stoffers biotilgjengelighet er kompleksdannelse, f.eks. kan metaller lett danne komplekser med humusstoffer.

I en spredningsanalyse kan man imidlertid kun ta hensyn til disse andre spredningsprosessene i de tilfeller stoffene og deres egenskaper er kjente.

Mer informasjon om spredningsberegninger finnes i vedlegg 4.

### Biologisk nedbrytbarhet

For å kunne vurdere risikoen i en forurensnings situasjon og faren for eksponering må man ha kjennskap til hvor raskt forurensningskomponentene brytes ned i miljøet. Nedbrytningshastigheten er avhengig av komponentenes kjemiske egenskaper samt av forholdene i det omkringliggende miljøet, bl.a. tilstedeværelse av mikroorganismer (bakterier, sopp, protozoa) som kan foreta nedbrytningen. I tillegg til mikrobiell nedbrytning kan stoffer omdannes under påvirkning av lys eller som følge av kjemiske reaksjoner i resipienten. Ulike nedbrytbarhetsteter er utviklet for å måle disse prosessene.

I tester av biologisk nedbrytbarhet blandes teststoffet med vann tilsatt mikroorganismer og nedbrytningsprosessen registreres ved måling av løst organisk karbon (direkte mål på konsentrasjonsendring), oksygenforbruk (indirekte mål; mikro-organismeaktivitet) eller CO<sub>2</sub>-utvikling (indirekte mål; nedbrutt endprodukt). (Se figur 4). Vanligvis utføres testene ved ca. 20 °C over 28 døgn. 4).

For biologiske nedbrytbarhetstester i et undersøkelsesprogram anbefales følgende testnivåer. Valg av testnivå gjøres etter behov:

Basisinformasjon	Nivå I	Nivå II
Innsamling av litteraturdata o.l., nedbrytbarhetsdata for kjente komponenter	Teste avløpsprøver for biologisk nedbrytbarhet.	<ol style="list-style-type: none"> <li>1. Testing av avløpsfraksjoner. Valg av test(er) vurderes i hvert tilfelle.</li> <li>2. Analyser av restproduktet fra nedbrytbarhetstest (nivå I): <ul style="list-style-type: none"> <li>• biologiske effekter/toksisitet</li> <li>• kjemisk karakterisering</li> </ul> </li> </ol>

Kjennskap til de kjemiske komponentene i avløpsvannet vil gi et bilde av i hvilken grad avløpsvannet inneholder nedbrytbare komponenter. En del informasjon om enkeltstoffers nedbrytbarhet kan skaffes fra litteratur (oppslagsbøker, datablader) eller databaser, ved søk på CD-rom eller on-line søkebasen.

Når avløpsvannets sammensetning er ufullstendig kjent, eller det savnes data om inngående komponenters nedbrytbarhet, kan det være nødvendig å foreta nedbrytbarhetstester av avløpsvannet eller enkelte innholdsstoffer. Standardtester for biologisk nedbrytbarhet (f.eks.

OECD Guidenes for Testing of Chemicals, 301 A-F) er utviklet med tanke på å undersøke rene kjemikalier enkeltvis. Enkeltstoffer regnes for å være "lett nedbrytbare" dersom nedbrytbarhetstester viser at 70 % av stoffet målt som organisk karbon blir fjernet i løpet av 28 dager. Ved testing av industriavløpsvann, som inneholder mange ulike komponenter kan dette kriterium for nedbrytbarhet ikke brukes uten videre. En høy nedbrytningsgrad tyder på at i hvert fall de organiske hovedkomponentene i avløpsvannet er lett nedbrytbare, men man må være klar over at avløpsvannet likevel kan inneholde mer eller mindre persistente komponenter.

Selv om nedbrytbarhetstester ikke gir informasjon om nedbrytbarheten til de enkelte komponenter i en kompleks blanding av tildels ukjente stoffer, kan man ved å karakterisere avløpsvannet før og etter nedbrytning undersøke hvordan viktige egenskaper som toksisitet og innhold av bioakkumulerbare komponenter endres ved nedbrytning. En aktuell fremgangsmåte er å utføre en nedbrytbarhetstest etter samme prinsipper som i OECD 301 E ("DOC Die-away test") og sammenligne prøver tatt før og etter nedbrytning med en toksisitetstest (f.eks. alger eller dafnier) og eventuelt. kromatografisk undersøkelse av potensielt bioakkumulerbare forbindelser.

Hvis man ikke finner noen toksisitet i avløpsprøven etter en nedbrytningstest betyr det alle giftige komponenten i avløpet er lett nedbrytbare. Dersom bioakkumulerbarhetstestene viser at bioakkumulerbare komponenter ikke fjernes ved nedbrytning kan dette gi grunn til en oppfølging fordi kombinasjonen persistens og bioakkumuleringspotensial er spesielt betenkelig mht. miljørisiko.

Resultatene (nedbrytning/tidsenhet) fra de standardiserte testene for lett nedbrytbarhet kan ikke brukes direkte for å beregne halveringstider i resipienten. Imidlertid kan man bruke disse resultatene til grovt å anslå nedbrytningshastigheten når testresultatene kan korrigeres for antatte reaksjoner i resipienten. For mer nøyaktig beregning av nedbrytningshastigheten i resipienten kreves simuleringstester, som etterligner forholdene (vannkvalitet, temperatur, konsentrasjon og mikro-organismesamfunn) i den aktuelle resipient. Denne fremgangsmåten forutsetter at de forurensningskomponenter som skal undersøkes er kjente og kan analyseres kjemisk.

#### *Generelt om nedbrytbarhet*

En stor del av de organiske miljøgiftene er persistente forbindelser. Fordi disse stoffene er tilnærmet stabile i naturen, kan de bioakkumuleres i enkeltorganismer, og noen av dem oppkonsentreres i næringskjeden. Persistente og bioakkumulerbare forbindelser kan derfor føre til uheldige langtidseffekter i økosystemet og gi kroniske skader på organismer.

Stoffenes nedbrytbarhet er avhengig av bl.a. deres kjemiske struktur. Noen generelle holdepunkter kan nevnes. Kortkjedete alkaner, alkoholer, aldehyder, syrer, estere, amider og aminosyrer brytes lett ned, mens alkaner med molekylvekt over 500, forgrenede alkaner, olefiner, ketoner, dikarboksyliksyrer, nitriler, aminer og klorerte hydrokarbener er mer motstandsdyktige. Mono-substitusjon (erstatning av et hydrogenatom med annet atom eller molekylgruppe) på benzen-ringen øker vanligvis nedbrytbarheten, spesielt karboksyl- og hydroksyl-substitusjon. Amino- metoxy- og alkyl-substitusjon inntar en mellomstilling, mens nitro-, sulfo- og halogen-substitusjon hindrer mikrobielt angrep. Hos di-substituerte benzener (erstatning av to hydrogenatom med andre atomer eller molekylgrupper) er



posisjon på ringen helt avgjørende, idet ortho- og para-substituerte er lettere omsettbare enn metasubstituerte.

For at mikroorganismer skal kunne bryte ned eller omdanne de organiske stoffene, må de være løst i vann. Mikroorganismenes evne til å bryte ned organiske stoffer er derfor avhengig av stoffenes vannløselighet. Nedbrytningen øker med økt vannløselighet, men reduseres med økt tendens hos stoffene til å binde seg til partikler

Når kjemiske forbindelser brytes ned dannes mellomprodukter eller omdanningsprodukter (metabolitter). Noen metabolitter, f.eks. oxo-PAH som er metabolitter av PAH-forbindelsene, er mer toksiske enn den opprinnelige forbindelsen.

I enkelte tilfeller er utslippskomponentene giftige overfor testorganismene. Dersom dette er tilfelle blir testresultatene umulig å tolke fordi nedbrytningsprosessen da blir avbrutt eller hemmet. For å kontrollere hvorvidt nedbrytningen er hemmet av toksiske forbindelser anbefales at et toksisitetstestkontroll inkluderes i nedbrytbarhetstesten.

Ute i naturen vil i mange tilfeller nedbrytningshastigheten være sesongavhengig og variere i løpet av året pga endringer i temperatur og lysforhold. Potensialet for nedbrytning vil også variere mellom ulike miljøer fordi det er forskjeller i mikroorganismenes sammensetning, mengde og aktivitet. I grunnvann, hvor mikro-organismeaktiviteten er lav skjer nedbrytningen langsomt.

#### *Aerob og anaerob nedbryting*

Organiske forbindelser kan nedbrytes av mikroorganismer både under aerobe forhold (med tilgang på oksygen) og anaerobe forhold (uten tilgang på oksygen).

Ved aerob nedbrytning av organiske forbindelser er sluttproduktene hovedsakelig  $\text{CO}_2$  og vann. Dersom de organiske forbindelsene inneholder klor, svovel, nitrogen eller fosfor vil disse elementer kunne avspaltes i form av henholdsvis HCl, SH-forbindelser (som kan oksidere videre til  $\text{SO}_2$  / $\text{SO}_4$ ),  $\text{NH}_3$  og  $\text{NH}_4^+$  (som kan oksidere videre til  $\text{NO}_2$  / $\text{NO}_3$ ) og fosfater. Enkelte forbindelser, f.eks. mettede hydrokarboner, kan bare brytes ned under aerobe forhold.

Ved anaerob nedbrytning i ferskvann dannes hovedsakelig sluttproduktene  $\text{CH}_4$  og  $\text{CO}_2$ , men dersom den anaerobe nedbrytningen foregår i marint miljø blir sluttproduktene i hovedsak  $\text{H}_2\text{S}$  (fra  $\text{SO}_4^{2-}$  i sjøvannet) og  $\text{CO}_2$ . Visse halogenerede forbindelser som er meget persistente i aerobt miljø, kan gjennomgå en dehalogeneringsprosess (reduktiv dehalogenering) under anaerobe forhold.

I de biologiske nedbrytbarhetstestene undersøkes vanligvis stoffers mikrobielle omdanning i et aerobt miljø og under standardiserte betingelser. Testresultatene gir en indikasjon på hvor fort forurensningskomponentene brytes ned i et miljø der det er tilgang på luft. Anaerobe tester gir viktig informasjon om stoffenes skjebne i oksygenfattige miljøer, f.eks. i sedimenter. I senere tid er også testmetoder for anaerob nedbrytbarhet blitt standardisert, men foreløpig er tilgangen på data for anaerob nedbrytning av kjemikalier forholdsvis begrenset.

### Bioakkumulerbarhet

Enkelte forurensingskomponenter har en tendens til å akkumulere i organismer og utgjør en miljørisiko ved at det oppstår en opphopning av forurensningene som kan være til skade organismen og miljøet. Stabile forbindelser kan akkumuleres oppover i næringskjeden (biomagnifikasjon). De vanskelig nedbrytbare (persistente) og fettløselige (upolare; lipofile) organiske miljøgiftene, slik som PCB, dioksiner o.a., tilhører denne gruppen.

Lipofile stoffer passerer (diffunderer) lett gjennom cellemembraner og lagres i fettvev. Ikke all oppkonsentrering skjer via diffusjon, men stoffer kan også opptas i organismer via andre biokjemiske mekanismer, f.eks. tas uorganisk bly opp via kalsiumkanalene i tarmen. Metaller kan akkumuleres i beinvev eller i andre organer, og opptaksbildet varierer beroende på hvilken metall eller hvilke organismer det gjelder. Også molekylstørrelse kan ha betydning for stoffets bioakkumulerbarhet.

Selv om det er mange ulike biokjemiske prosesser som er årsak til stoffers giftvirkning, vil deres bioakkumulerbarhet i organismer gi en indikasjon på potensiell miljøfarlighet og om sannsynligheten for at forurensningene vil påvirke organismen og økosystemet over lengre tid.

Bioakkumulerbarheten av kjemiske forbindelser i et utslipp kan måles, og det anbefales at dette gjøres trinnvis avhengig av hvilken informasjon som er nødvendig for miljørisikovurderingen:

Basisinformasjon	Nivå I	Nivå II
Innsamling av litteratordata o.l.	Måle potensiell bioakkumulering (log $P_{ow}$ )	<ol style="list-style-type: none"> <li>1. Testing av avløpsfraksjoner. Valg av test(er) vurderes i hvert tilfelle.</li> <li>2. Kjemisk karakterisering av potensielle bioakkumulerbare stoffer.</li> </ol>

Det finnes opplysninger om enkeltstoffers bioakkumulerbarhet i litteratur (oppslagsbøker, klassifikasjonsdata) og i databaser.

På grunn av at bioakkumulering av organiske stoffer er avhengig av fettløseligheten eller lipofiliteten, brukes målinger av fettløselighet for å preliminært bedømme potensiale for bioakkumulering.. Dette gjøres ved å analysere hvordan et stoff fordeler seg imellom en vannfase og en fettfase (vanligvis oktanol). Fordelingskoeffisienten mellom vann og oktanol kan bestemmes vha. væske-væske-ekstraksjon eller, vanligere, vha en kromatografisk analysemetode (TLC, HPLC). Resultatet uttrykkes som en konstant,  $P_{ow}$  eller  $K_{ow}$  (eller  $\log P_{ow}$ , resp.  $\log K_{ow}$ ), som beskriver forholdet mellom konsentrasjonen av stoffet i oktanol-fasen og vannfasen ( $C_{oktanol}/C_{vann}$ ).

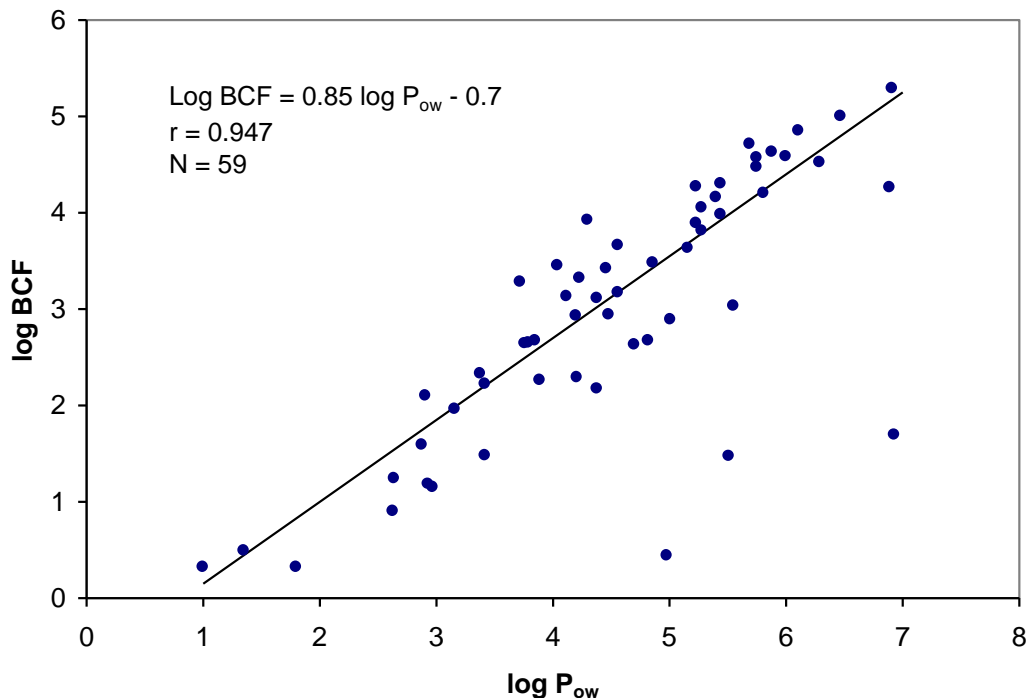
$$K_{ow} = P_{ow} = \log C_{oktanol}/C_{vann}$$

$$\log P_{ow} = \log (C_{oktanol}/C_{vann})$$

Metoder for bestemmelse av  $P_{ow}$  er bl.a. OECD test nr. 107 (Shake flask method) og 117 (HPLC method).

Oktanol-vann-metoden er lite egnet til å teste overflateaktive stoffer (surfaktanter) fordi disse vil fordele seg i grensesjiktet.

Bioakkumulering kan også bestemmes direkte ved å måle hvor mye av et stoff som akkumuleres i en organisme ved eksponering (OECD test nr. 305). Man får da en såkalt biokonsentrasjons-faktor (BCF), som uttrykker konsentrasjonsforholdet av et stoff i organismen og den omgivende vannfasen under likevektsforhold, (f.eks.  $BCF = C_{fisk}/C_{vann}$ ). Eksempel på sammenheng mellom  $P_{ow}$  og BCF for et utvalg av organiske kjemikalier er vist i figur. 4. Korrelasjonen mellom de to parametrene er åpenbar, men variasjonen rundt en korrelasjonslinje er stor. Avviket er spesielt stor for enkelte stoffer som har meget lav BCF i forhold til  $P_{ow}$ -verdien. Dette er trolig stoffer som gjennomgår en rask omvandling (metabolisering) i organismene. Slike forbindelser vil ha en lavere BCF-faktor enn man kan forvente fra måling av  $P_{ow}$ . For meget lipofile stoffer ( $\log P_{ow} > 7$ ) minker tendensen til biokonsentrering pga. begrenset biotilgjengelighet. Også stoffer med høy molekylvekt (>600) eller med en molekylstruktur som forhindrer passage gjennom cellemembraner har et begrenset potensiale for bioakkumulering.



Figur 4: Eksempel på sammenheng mellom fordelingskoeffisient oktanol /vann ( $P_{ow}$ ) og biokonsentreringsfaktor i fisk (BCF). (Fra Veith et al. 1979).

For å identifisere de bioakkumulerbare komponentene i et forurensningsutslipp som består av en blanding av flere stoffer, må man å foreta kjemisk analyse av komponentene i den fettløselige fraksjonen. Dvs. man kan isolere de fettfraksjonene ( $\log P_{ow} > 3 - 6$ ), f.eks. ved hjelp av kromatografiske metoder. Fraksjonering med HPLC eller TLC etterfulgt av GC-analyse av fraksjoner med  $P_{ow} > 6$  gir en indikasjon på forekomst av potensielt bioakkumulerbare komponenter.

Når de bioakkumulerbare forurensningskomponentene er kjente kan man ved behov teste disse stoffenes bioakkumulering i organismer i laboratorie- eller feltforsøk. Denne typen tester er imidlertid forholdsvis ressurskrevende.

Miljøkonsekvensen av bioakkumulerbare komponenter er større dersom de i tillegg er persistente. Dette forhold kan undersøkes ved å teste for bioakkumulerbare stoffer før og etter en 28 døgns nedbrytbarhetstest.

### **Økotoksisitet (giftighet i miljøet)**

Giftpåvirkningen av et forurensningsutslipp i en resipient bestemmes ved å teste prøver av utslippet på levende organismer (alger, kreps, fisk, etc.) f.eks. i standardiserte laboratorietester. Hensikten med toksisitetstestene er å gi et kvantitativt mål på giftvirkningen.

#### *Akutte og kroniske effekter*

Man skiller mellom akutt og kronisk giftighet. De akutte gifteffektene opptrer etter en forholdsvis kort eksponeringstid mens de kroniske effektene oppstår etter en langvarig eksponering ved lavere forurensningskonsentrasjoner. Det er enklest å teste for forurensningers akutte giftighet, men i miljøet er det også nødvendig å ta hensyn til den kroniske giftigheten.

Dersom begrepene akutt og kronisk giftighet skal være meningsfulle må eksponeringstiden imidlertid relateres til organismenes livstid og livssyklus. I en sammenstilling av akvatiske toksisitetstestmetoder har OECD (1995) foreslått følgende definisjoner på begrepene "akutt" (ac) og "kronisk" (cr):

- akutte effekter: dødelige (letale) eller skadelige (subletale) effekter som registreres etter en kort eksponeringstid i forhold til organismens livstid
- kroniske effekter: gifteffekter som observeres etter en eksponeringstid som er minst like lang som organismens hele livssyklus
- sub-kroniske effekter: effekter som observeres etter en eksponeringsperiode som dekker en vesentlig del av livssyklusen, eller som dekker livsstadier eller livsprosesser som er antatt å være spesielt følsomme

Som det fremgår av definisjonene kan akutte og kroniske effekter være enten dødelige (letale) eller skadelige (subletale).

Det anbefales at økotoksisiteten til et avløp testes trinnvis (se nedenfor) etter behov. Innledningsvis innsamles all tilgjengelig informasjon om forurensningssituasjonen. Dersom innholdet i forurensningsutslippet er kjent, kan en del grunnleggende informasjon hentes fra litteraturen. Deretter utarbeides en plan for gjennomføringen av testingen, bl.a. bestemme antall prøver og hvilke organismer som skal inngå i testbatteriet. Det anbefales at

det velges mest mulig økologisk relevante organismer til testene. Bl.a. bør forurensningsutslipp som går til en ferskvannsresipient testes på ferskvannsorganismer og utslipp til marint miljø bør testes på marine organismer.

Et økotokstestprogram er forholdsvis dyrt og må derfor planlegges grundig. Valg av undersøkelsesnivå må vurderes i hvert enkelt tilfelle:

Basisinformasjon	Nivå I	Nivå II
Innsamling av historiske data, litteraturdata o.l.	L(E)C <sub>50</sub> -test på organismer fra 3 trofiske nivåer (alge, kreps-dyr og fisk). Bruk av økologisk relevante testorganismer.	<ol style="list-style-type: none"> <li>1. Ytterligere L(E)C<sub>50</sub>-tester</li> <li>2. Test for kronisk toksisitet.</li> <li>3. Testing av avløpsfraksjoner. Valg av test(er) vurderes i hvert tilfelle.</li> </ol>

På testnivå I bør akutt giftighet testes på organismer fra minst 3 forskjellige trofiske nivåer (trinn i næringskjeden), dvs. i algetest, krepsdyr-test og fisketest. Slik testing foretas med såkalte korttidstester (2-4 døgn) og er forholdsvis lite kostnadskrevenende.

Testing på krepsdyr og fisk gir informasjon om akutte effekter (immobilisering, dødelighet) mens algetestene, hvor hemming av populasjonsveksten over flere delingssyklusur blir registrert også gir informasjon om kroniske effekter..

Undersøkelser på nivå II skal supplere den informasjonen som man fått fra testingen på nivå I. Valg av type test på dette nivå blir derfor avhengig av den aktuelle problemstillingen og hva som er fremkommet i tidligere undersøkelser.

Som regel bør videre toksistetstesting foretas med de organismetyperne som har vist seg å være mest følsomme for forurensningene i testene på nivå I. Dersom algene er de mest følsomme kan det i neste undersøkelsestrinn være aktuelt å undersøke toksisiteten på flere arter av alger. Variasjonen i følsomhet mellom ulike arter er ofte større for alger enn for krepsdyr og fisk.

Dersom det foreligger mistanke om at avløpsvannet inneholder komponenter som kan ha andre biologiske effekter enn de som kan påvises med basistestene på nivå I, kan man undersøke for spesielle effekter, slik som effekter på hormonsystemer eller økt enzymaktivitet i organismer som en indikasjon på toksisk eksponering (induksjon av biotransformasjonsenzymer (avgiftnings-enzym)) (Se kap. 4). Andre skade-effekter som adferdsendringer og respirasjonshemming kan også studeres.

#### *Anbefalte testorganismer*

Ved valg av testorganismer må en veie hensynet til standardisering mot hensynet til økologisk relevans. Standardisering er ønskelig for å kunne sammenligne resultater fra ulike testserier, og standardiserte tester er ofte mer robuste og pålitelige enn ikke standardiserte. Bruk av økologisk relevante testorganismer er derimot ønskelig for å øke presisjonen i risikoanalysen for den enkelte utslippssituasjonen.

Generelt anbefales at det brukes mest mulig standardiserte tester, sett i forhold til det

aktuelle problem. Det anbefales også at toksisitetstester med ferskvannsorganismer benyttes for å karakterisere utslipp som har en ferskvannsresipient, og at marine organismer benyttes når utslippet går til en marine resipienter. Det anbefales at testene som er beskrevet i OECD Guidelines brukes for ferskvannstestene, mens testene som er utviklet innen PARCOM for testing av oljekjemikalier brukes som marine tester (Se tabell nedenfor).

Det er utarbeidet standardiserte testsystemer som listet i tabellen nedenfor. Disse anbefales brukt, i hvert fall på nivå I.

Trofisk nivå	Testorganisme	Resipient	Type	Test protokoll
<b>Alge</b>	<i>Selenastrum capricornutum</i> (planktonalge)	ferskvann	Kronisk effekt, EC <sub>50</sub> , 72 timers test	OECD Guideline 201 and ISO/DIS 8692
	<i>Skeletonema costatum</i> (planktonalge)	marin	Kronisk effekt, EC <sub>50</sub> 72 timers test	ISO/DIS 10253
<b>Krepsdyr</b>	<i>Daphnia magna</i> (zooplankton)	ferskvann	Akutt effekt, EC <sub>50</sub> 48 timers test	OECD Guideline 202 and ISO 6341
	<i>Acartia tonsa</i> (zooplankton)	marin	Akutt effekt, LC <sub>50</sub> 48 timers test	ISO 14669
<b>Fisk</b>	Laks, juvenil ( <i>Salmo salar</i> )	ferskvann	Akutt effekt, LC <sub>50</sub> 72 timers test	OECD Guideline 203 and NS 4717
	Piggvar, juvenil <i>Scophthalmus maximus</i>	marin	Akutt effekt, LC <sub>50</sub> 96 timers test	PARCOM ringtest draft protocol (modification to OECD Guideline 203)

Tester for kroniske effekter skal omfatte testorganismens hele livssyklus. Kroniske tester med fisk og mange evertebrater er tidkrevende. Som et alternativ kan man bruke såkalte subkroniske tester, dvs. tester som ikke går over så lang tidsperiode at de omfatter hele livssykluser men hvor spesielt følsomme livsstadier hos organismen inngår. For fisk er det f.eks. utviklet tester der de følsomme egg- og yngelstadiene inngår. Disse testene kalles FELST (fish early life stage test). En generell protokoll (metodebeskrivelse) for slike tester, både for ferskvanns- og marine organismer, finnes i OECD Guideline 210. Testen omfatter stadiene fra nylig befruktede egg til det ynglene begynner å ta fôr. En noe avkortet variant av metoden, uten føring av ynglene er utgitt som norsk standard (NS 4763). Metoden foreskriver bruk av en tropisk fisk, sebrafisk, og har en forholdsvis kort testperioden, ca. 14 døgn.

Det er utviklet flere tester med krepsdyr for måle subkroniske eller kroniske effekter, men få er standardisert. Mest brukt er reproduksjonstesten med *Daphnia magna* (OECD-test 211). I denne eksponeres unge (juvenile) forsøksdyr i 21 døgn. De begynner å reproducere seg normalt etter 7-9 døgn, og deretter fødes nye kull med ca. 3 døgns intervall. Antallet produserte unger pr. individ blir registrert, og på grunnlag av observasjonene kan EC- og/eller NOEC verdier bestemmes.

Testmetoder for reproduksjonseffekter på marine krepsdyr er foreløpig ikke internasjonalt standardisert, men Copepoder som blir benyttet i akutt-tester (f.eks. *Acartia tonsa* eller *Nitocra spinipes*) egner seg også for reproduksjonstester eller egg/larve-tester.

### *Faktorer som kan påvirke toksisiteten og testresultatene*

Fordi man i økotoksikologiske tester bruker levende organismer som "måleinstrument" er det flere fysiske, kjemiske og biologiske faktorer som kan påvirke resultatene.

Testorganismene blir stresset når forholdene i deres omgivelser endres, slik som det ofte er tilfelle ved laboratorietesting, og som følge av dette kan organismenes reaksjonsmønster endres.. Bruk av standardtester reduserer denne typen av usikkerhet ved at man benytter testbetingelser som er tilpasset de enkelte testorganismer. Likevel er toksisitetstester beheftet med en usikkerhet som tildels kan beskrives med repeterbarheten for testsystemet innenfor et testlaboratorium og reproducerbarheten for en test utført ved forskjellige testlaboratorier. Disse forhold kan belyses ved bruk av referankestoffer, som dels blir benyttet til regelmessig internkontroll i testlaboratoriene og dels ved ring-testing av testmetodene. For de standard testmetoder som benyttes i Nivå I har man derfor som regel kjennskap til usikkerheten i bestemmelsen av effektkonsentrasjoner for ulike testorganismer.

En annen usikkerhet er knyttet til ekstrapolering av data fra toksisitetstester til effekter på andre arter, populasjoner og samfunn i miljøet. Denne usikkerheten blir det tatt høyde for ved bruk av usikkerhets- eller applikasjonsfaktorer i forbindelse med risikovurdering (Se kap. 3, vedlegg 5).

Utvidede undersøkinger utføres vanligvis da man har behov for testresultater som har større økologisk relevans enn hva som kan oppnås med å teste bare på noen få arter. Tester med hele organismesamfunn kan da være aktuelt. Slike testsystemer kan variere i kompleksitet fra mikrokosmostester med få arter, til mesokosmostester (tester i modell-økosystem) hvor man foretar eksperimenter i avgrensede deler av et tilnærmet naturlig økosystem. Eksempler på modelløkosystem som har vært benyttet i Norge er plankton-samfunn i innhegninger i åpent vann, hardbunnsamfunn i bassenger og bunnsamfunn i eksperimentrenner. Tester i modelløkosystemer gir ikke bare informasjon om toksiske effekter på organismer i systemet, men også om stoffenes fordeling og skjebne i miljøet, f.eks. sedimentering og nedbrytning.

Modell-økosystemtester kan ikke standardiseres i egentlig forstand på grunn av deres kompleksitet, men det finnes retningslinjer for hvordan slike tester skal planlegges og utføres. Modelløkosystemtester må utføres av kompetente vitenskapelige institusjoner og vil som regel være meget ressurskrevende. Informasjonen fra slike testsystemer er omfattende men kan være vanskelig å tolke. På den annen side kan man ved valg av egnet testsystem oppnå høy relevans for en aktuell problemstilling.

### 3. PRINSIPPER FOR VURDERING AV RESULTATER

Vurdering av industriavløpsvann på grunnlag av den informasjon som er framkommet ved en kjemisk/økotoksikologisk undersøkelse som beskrevet i kap. 2 må gjøres med hensyn til:

- innhold av ulike stoffer og stoffgrupper
- samlet toksisitet
- risiko for effekter i resipienten

#### Innhold av stoffer og stoffgrupper

For kjente enkeltkomponenter i avløpsvannet som er underlagt spesielle begrensninger (f.eks. OBS-liste, OSPARCOM-liste) må utslippet reguleres i henhold til gjeldende forskrifter og avtaler uavhengig av den risiko som er beregnet for den aktuelle resipient. For andre komponenter og »samleparametere» som er bestemt ved den fysisk/kjemiske karakteriseringen av avløpsvannet kan det være et nyttig utgangspunkt å sammenlikne disse med bakgrunnsnivåer i den aktuelle resipient, eller »normale» bakgrunnskonsentrasjoner. Det bør også taes hensyn til de totale utslippsmengdene og fortynningsforhold i resipienten. Som et hjelpemiddel i tolkingen av data for avløpsvann har Naturvårdsverket i Sverige i forbindelse med det sk. »Stork-prosjektet» foreslått grenseverdier for ulike analyseparametere. Hensikten er at når grenseverdiene overskrides skal behov for ytterligere undersøkelser eller tiltak vurderes. Følgende grenseverdier er foreslått for utgående avløpsvann og avløpsvann etter stabilisering i en 28 døgns nedbrytbarhetstest (persistent fraksjon):

Analyse	»Vanlig forekommende» bakgrunnskons. (mg/l)	Konsentrasjon i avløpsvannet (mg/l)	Kons. i stabilisert avløpsvann, »persistent fraksjon» (mg/l)	Utslippsmengd i stabilisert avløpsvann (kg/d)
COD <sub>Cr</sub>	10	200	40	4
BOD <sub>7</sub>	4	80	16	1,6
TOC, DOC	5	100	20	2
AOX	0,05	1,0	0,2	0,02
EOX	0,001 <sup>1)</sup>	0,020	0,004	0,0004
Olje	0,1 <sup>1)</sup>	2,0 <sup>2)</sup>	0,4	0,04
Potensielt akkumulært stoff	0,05 <sup>1)</sup>	0,5	0,1	0,01
Suspendert materiale	1,5	30	-	-
Total nitrogen	0,3	15	-	-
Total fosfor	0,0075	1	-	-
Toksisitet <sup>3)</sup> :				
EC <sub>50</sub>	-	100	-	-
TEQ	-	100	-	-

1) Deteksjonsgrense

2) HELCOM-rekommendasjon 1985 for raffinerier: 5 mg/l

3) Toksitetenheter: EC<sub>50</sub> : % innblanding; TEQ: (1/EC<sub>50</sub>) x Q (m<sup>3</sup>/d)



Dersom det er påvist kjente eller ukjente komponenter som er potensielt bioakkumulerbare bør disse reguleres uavhengig av forfynningsforhold i resipienten fordi faren for miljøeffekter av slike stoffer er mer avhengig av den totale utslippsmengden enn av konsentrasjonen i resipienten. Det svenske Naturvårdsverket har foreslått en totalhalt av 0.05 kg/d av potensielt bioakkumulerbare stoffer og 0.01 kg/d for persistente bioakkumulerbare stoffer som en grenseverdi for videre undersøkelser eller tiltak.

Det kan også være grunn til spesielle begrensninger av persistente forbindelser selv om disse ikke blir vurdert til å utgjøre en direkte risiko i form av bioakkumulering eller toksiske effekter i resipienten. Utslipp av persistente forbindelser i miljøet kan føre til en opphoping som på sikt kan få uønskede konsekvenser som vi ikke kjenner i dag. Informasjon om nedbrytbarhet vil ellers bli benyttet for beregninger av eksponeringskonsentrasjoner i resipienten i forbindelse med risikovurdering.

I den danske veiledningen »Industrispildevands miljøfarlighet» (se Nyttig litteratur, ref. 4) er det fastsatt »bagatellgrenser» for stoffkonsentrasjoner i avløpsvannet. Disse »bagatellgrensene» viser når avløpsvannet enten må undesøkes videre eller miljørisikoen må begrenses ved å fastsette utslippsgrenser. Følgende »bagatellgrenser» er fastsatt (for R-klassifisering se Forskrift om klassifisering, merking mv av farlige kjemikalier, SFT 1998)

- den samlede konsentrasjonen av stoffer, som etter de formelle kriteriene for miljøklassifisering skal klassifiseres R50 eller R50/R53 må ikke være  $\geq 1$  mg/l,
- den samlede konsentrasjonen av stoffer, som etter de formelle kriteriene for miljøklassifisering skal klassifiseres R51/R53 må ikke være  $\geq 10$  mg/l,
- den samlede konsentrasjonen av stoffer, som etter de formelle kriteriene for miljøklassifisering skal klassifiseres R52/R53 (miljøskadelige) må ikke være  $\geq 100$  mg/l,
- den samlede konsentrasjonen av stoffer, som etter de formelle kriteriene for miljøklassifisering skal klassifiseres R50/R53, R51/53, R52/53 eller R53 må ikke være  $\geq 1$  kg/måned,
- Det må ikke inngå stoffer som skal klassifiseres R53 (alene eller i kombinasjon med andre R-setninger), og som kan forårsake langvarige eller kroniske helseskader (dvs. stoffer som skal klassifiseres R33, R39, R40, R45, R46, R60, R61, R62, R63 eller R64).

### Avløpsvannets toksisitet

Avløpsvannets toksisitet blir normalt bestemt ved toksisitetstester av prøver fra utslippet som beskrevet i kap. 2. Dersom avløpsvannets sammensetning er godt dokumentert og toksisiteten av de inngående komponentene er kjent kan også den samlede toksisiteten beregnes teoretisk, med antagelsen at virkningen av de ulike toksiske komponentene er additiv. Man dividerer da den aktuelle konsentrasjonen for hver komponent i avløpsvannet med den samme komponentens  $EC_{50}$ -verdi og summerer opp de resulterende kvotene for alle komponentene til toksiske enheter ( $TU_{bland}$ ):

$$TU_{bland} = \frac{C_1}{EC50_1} + \frac{C_2}{EC50_2} + \dots + \frac{C_n}{EC50_n} = \sum \frac{C_i}{EC50_i}$$

Avløpsvannets  $EC_{50}$ -verdi blir  $100/TU_{bland}$  (vol %)

Dersom den beregnede toksisiteten er lavere enn den som er målt ved toksisitetstestene (med samme organisme) er det en indikasjon på at avløpsvannet inneholder ikke-identifiserte toksiske forbindelser eller at de toksiske komponentene har en synergistisk virkning. Dersom den beregnede toksisiteten er høyere enn den målte kan det tyde på at virkningen av komponentene er antagonistisk (motvirkende) eller at de toksiske forbindelsene forekommer i en lite biotilgjengelig form.

Som veiledning i vurdering av toksisitet av komponenter i avløpsvann kan det vises til de grenseverdier som brukes i forbindelse med klassifisering av kjemikalier. Her betegnes stoffer med  $L(E)C_{50} < 1$  mg/l som meget giftige og blir klassifisert som miljøfarlige med R-setningen R50. For stoffer som er mindre giftige kreves at de i tillegg skal være vanskelig nedbrytbare og/eller bioakkumulerbare for at de skal klassifiseres som miljøfarlige.

Når det gjelder avløpsvann er klassifisering eller regulering på grunnlag av toksisitet målt som  $L(E)C_{50}$ -verdier mindre meningsfullt. Avløpsvannets toksiske effekt er avhengig av fortynningsgraden av de toksiske komponentene i avløpsvannet og senere i resipienten. En dårligere vannhusholdning i en industri vil altså kunne resultere i at avløpsvannets toksisitet reduseres ved fortynning av de toksiske komponentene. For å kunne bedømme utslippets samlede toksiske potensiale anbefales derfor beregning av "Toksisitetsekvivalenter" (TEQ). Beregningen av TEQ tar utgangspunkt i en bestemt effektkonsentrasjon, f.eks.  $LC_{50}$ -verdi eller  $EC_{50}$ -verdi. Normalt velges den laveste  $L(E)C_{50}$ -verdien fra den økotoksikologiske karakteriseringen. Denne verdi (angitt som vol.% avløpsvann omregnes først til »Toxic Units» (TU) for å få en enhet som er proporsjonal med toksisiteten:

$$TU = \frac{100}{L(E)C_{50}}$$

TU-verdien angir altså den fortynning av avløpsvannet som må til for å redusere toksisiteten ned til 50% effekt i den aktuelle toksisitetstesten.

Toksisitetsekvivalenten beregnes så ved å multiplisere avløpsvannets TU-verdi med utslippsvolumet (Q) angitt som  $m^3/d$ :

$$TEQ = TU \times Q$$

TEQ-begrepet er nyttig for sammenligning av toksiske utslippsmengder fra ulike industrier. Det kan f.eks. brukes til å sette standarder for ulike industrigrener. Det er også nyttig i forbindelse med vurdering av den relative betydningen av ulike utslipp til en resipient.

### Risiko for effekter i resipienten

Risikovurderingen utføres som en sammenlikning av forventet konsentrasjon av avløpsvann i ulike deler av resipienten (PEC) med de forventede null-effektskonsentrasjoner for hhv. akutte og kroniske effekter (PNEC). I henhold til internasjonal terminologi benyttes betegnelsene:

PEC = Predicted Environmental Concentration, og  
 PNEC = Predicted No Effect Concentration

Risikoen for toksiske effekter vurderes fra forholdet mellom disse konsentrasjoner:

$PEC/PNEC < 1$   $\longrightarrow$  ingen toksisk effekt

$PEC/PNEC > 1$   $\longrightarrow$  toksisk effekt

### *Beregning av PEC*

Konsentrasjonen av avløpsvann i ulike deler av resipienten kan beregnes mha. fortynnings- eller spredningsmodeller som beskrevet i kap.2. For de enkelte kjemiske komponenter i avløpsvannet vil konsentrasjonen i tillegg til fortykning påvirkes av faktorer som nedbrytning, sedimentering og fordamping. Betydningen av disse faktorene vil naturlig nok øke med avstanden fra utslippspunktet. Dersom risikoen analyseres for kjente komponenter i utslippet, kan prosesser som fjerner komponenten fra vannfasen innarbeides i spredningsberegningene.

Når risikovurderingen er basert på målt samlet toksisitet i avløpsvannet er som regel ikke de komponenter som er årsak til toksisiteten kjent, og man må forutsette at konsentrasjonen i resipienten er en funksjon av fortykning alene.

På grunn av at både avløpsvannets sammensetning og mengde samt fortynningsbetingelsene i resipienten kan variere med tiden er det nødvendig å utføre PEC-beregninger for ulike scenarier, f.eks. en gjennomsnittssituasjon og en »worst-case» situasjon.

### *Beregning av PNEC*

PNEC (for avløpsvannet eller enkeltkomponenter i avløpsvannet) fastlegges på grunnlag av toksisitetstester. Det innebærer at effektkonsentrasjoner bestemt for et begrenset antall organismer i laboratorietester må ekstrapoleres til en »null-effektkonsentrasjon» for samtlige organismer i resipienten. En slik ekstrapolering må ta hensyn til en rekke forhold som:

- Avstand fra 50% til 0% effektkonsentrasjon
- Forskjell i følsomhet mellom organismer
- Eventuelle effekter på høyere økologiske organisasjonsnivåer som ikke blir avdekket ved tester med enkeltarter
- Usikkerhet i ekstrapolering fra laboratorie- til feltsituasjon

Ved beregning av PNEC for kroniske effekter fra data for akutt toksisitet må man også ta hensyn til forskjellen i konsentrasjonsnivå for akutte resp. kroniske effekter.

Ekstrapoleringen blir i praksis foretatt ved bruk av applikasjonsfaktorer (»usikkerhetsfaktorer»). Størrelsen av disse er avhengig av mengden og kvaliteten på den informasjon som er tilgjengelig. I forbindelse med risikovurdering av kjemikalier innen EU er det utarbeidet en veiledning (Technical Guidance Document) hvor man foreslår følgende applikasjonsfaktorer for beregning av  $PNEC_{\text{kronisk}}$ :

Tilgjengelig informasjon	AF (PNEC <sub>kronisk</sub> )
Minst én kort-tids L(E)C <sub>50</sub> fra hver av tre trofiske nivåer (alger, dafnia, fisk)	1000
En lang-tids NOEC (fisk eller dafnia)	100
To lang-tids NOEC fra arter som representerer to trofiske nivåer (fisk og/eller dafnia og/eller alger)	50
Lang-tids NOEC fra minst tre arter (normalt fisk, dafnia og alger) som representerer tre trofiske nivåer	10

For bestemmning av PNEC<sub>akutt</sub> anbefales AF= 100 på laveste L(E)C<sub>50</sub> fra korttids-tester med alger, dafnier og fisk.

Undersøkelser foretatt av Miljøstyrelsen i Danmark har vist at forskjellen i følsomhet mellom organismer er mindre i komplekse blandinger enn for enkeltstoffer. På grunnlag av dette har man foreslått følgende applikasjonsfaktorer<sup>1</sup> for avløpsvann:

Tilgjengelig informasjon	AF (PNEC <sub>akutt</sub> )	AF (PNEC <sub>kronisk</sub> )
Laveste L(E)C <sub>50</sub> for akutt toksisitet	100	200
Laveste L(E)C <sub>50</sub> bestemt med minst én alge, ett krepsdyr og én fisk	10	20
Laveste L(E)C <sub>50</sub> for akutt toksisitet for arter fra 5 eller flere organismegrupper	5	10
Laveste NOEC bestemt i tester for kronisk toksisitet overfor minst én alge, ett krepsdyr og én fisk	-	5

Størrelsen på applikasjonsfaktorene skal oppfattes som veiledende, og de bør i hvert enkelt tilfelle vurderes i lys av alle tilgjengelige opplysninger (f.eks. helning på konsentrasjon/respons-kurver, innhold av persistente stoffer m.v.). Applikasjonsfaktorene skal fange opp alle de faktorer som kan påvirke testresultatene (se vedlegg 5).

### Risikovurdering

Risikovurdeingen bør starte med en analyse av PEC/PNEC (akutt og kronisk) etter initialfortynning av avløpsvannet i resipienten. Dersom begge beregningene viser PEC/PNEC < 1 er videre beregninger ikke nødvendig.

Dersom PEC etter initialfortynning overskrider PNEC-verdiene bør man på grunnlag av spredningsberegningene beregne utbredelsen av soner hvor PEC/PNEC<sub>akutt</sub> >1 og PEC/PNEC<sub>kronisk</sub> >1.

<sup>1</sup> Miljøstyrelsen bruker betegnelsen »Usikkerhetsfaktorer» (UF)

På grunnlag av av risikovurderingen (evt. med ulike scenarier) må det tas en beslutning om behov for ytterligere undersøkelser eller tiltak. Det kan ikke settes opp absolutte kriterier for slike beslutninger. Dersom risikovurderingen viser akutte eller kroniske effekter utenfor initialfortynningssonen må det vurderes ut fra de lokale forholdene om omfanget av slike effekter kan aksepteres. Resipientens følsomhet overfor de gjeldende forurensningene samt hyppigheten og varigheten av forurensningsbelastningen vil ha avgjørende betydning for hvor stort forurensningsutslipp som kan aksepteres.

### **Nyttig litteratur**

For ytterligere informasjon om testing og miljørisikovurdering av komplekse blandinger anbefales spesielt følgende rapporter, som også inneholder eksempler på testresultater fra ulike industribransjer:

1. Allmänna råd 89:5: Biologisk - kemisk karakterisering av industriavloppsvatten. Tillämpning vid provning och tillsyn av miljöfarlig verksamhet. Naturvårdsverket, Sverige. 1989.
2. Rapport 4621: Karakterisering av utsläpp från kemiindustrin. Stork-projektet. Naturvårdsverket, Sverige. 1996.
3. Miljøprosjekt nr. 188. Økotoksikologisk vurdering af industrispildevand. Miljøstyrelsen, Danmark. 1992.
4. Miljøprosjekt nr. 260: Industrispildevands miljøfarlighed. Miljøstyrelsen, Danmark. 1994.
5. Ecotoxicological Evaluation of Wastewater within Whole Effluent Assessment. Draft OSPAR Background Document concerning the elaboration of programmes and measures relating Whole effluent Assessment. November 1999.

#### **4. BIOMARKØRER**

Det er ønskelig, særlig i forbindelse med overvåkning, å kunne registrere de endringer i naturen som oppstår som følge av forurensningsutslipp. Det er også ønskelig å kunne varsle negative miljøeffekter i naturen på et så tidlig stadium som mulig. Til dette trenger man biomarkører, dvs. endringer i naturen som kan registreres over tid.

Som biomarkører kan brukes mange ulike parametre bare de er målbare. Biomarkør kan være alt fra artstettheten i et område til enzymaktiviteter hos organismer eller andre biokjemiske eller fysiologiske funksjoner. Det er imidlertid meget vanskelig å utvikle biomarkører som både er egnet som overvåkingsparametre og som er lette å måle og tolke. Hovedårsaken til dette er økosystemens komplekse natur og dagens manglende kunnskap om alle de ulike fenomenene og variasjonene som forekommer naturlig. Årstidsvariasjoner, geografiske variasjoner, variasjoner som følge av hvilket livsstadium organismer er i, osv, vil alle påvirke tolkningen av biomarkørutslagene. Valg av biomarkør er derfor utfordrende. Mulighetene for å bruke biomarkører i praksis i dag er begrenset, men i fremtiden vil forhåpentlig biomarkører få en naturlig plass i mer avanserte overvåkings- og forskningsprogrammer.

For mer informasjon, se Vedlegg 6.



tilfelle foretas ut fra de faktiske utgående vannmengder. Volumkonstanten må velges slik at kravet til prøvetakingsfrekvens blir oppfylt.

### **Prøvetakingspunkt og prøvetakingsted**

Det er meget viktig at det er god omblanding i prøvetakingspunktet. For å oppnå dette må avstanden oppstrøms fra innløp av den siste delstrømmen til prøvetakingspunktet være tilstrekkelig lang. Blandingen skal være så god at man har tilnærmet den samme forurensningskonsentrasjonen over hele kanal/rørtverrsnittet. Det er ofte gunstig å ta prøven like etter en målerenne, overløpskant, rist, gitter eller annen form for grovsil. Det er viktig at veggene i utslippskanalen eller utslippsrøret er rene slik at man ikke får med organisk materiale fra begroing.

Skal man ta ut en vannprøve som er representativ for den aktuelle utslippsituasjonen forutsettes det at:

- prøvevannet er godt blandet i prøvetakingspunktet
- hyppige uttak av delprøver foretas
- at prøven (lukkede beholdere av egnet materiale) ikke kontamineres
- at utslippskanalen, utslippsrøret er tilfredsstillende rent
- at prøvetakingsutstyret er rent
- at det er kortest mulig avstand fra utslippsted til prøvetakingsted

### **Prøvetaking og prøvetakingssutstyr**

Enkle stikkprøver eller blandprøver over kortere tidsperioder tas vanligvis manuelt. Man trenger da ofte bare en øse eller kopp, festet på et skaft eller bundet i et snøre. Dersom man ønsker å ta prøven på en bestemt dybde finnes det prøvetaker konstruert for dette.

For automatisk prøvetaking finnes ulike typer utstyr basert på opptak vha vakuumsug eller opp-pumping med peristaltisk pumpe (slangepumpe). Tidligere brukte man en del automatisk utstyr basert på øse eller trykkluft, men slikt utstyr er mer eller mindre ute fra markedet i dag.

Prøvene helles over i ren emballasje, ofte på godt rengjorte flasker. Hvilket emballasjemateriell som skal brukes er avhengig av hvilke tester eller kjemiske analyser prøven skal brukes til. Plastflasker av polyetylen (PE) eller polypropylen (PP) kan brukes i mange tilfeller, men plastemballasje må ikke brukes når prøven skal analyseres for organiske forbindelser. Da bør man bruke godt rengjorte glassflasker eller emballasje av tilsvarende inert materiale. Valg av emballasje bør diskuteres med test/analyselaboratoriet før prøvetakingen starter, og det anbefales at emballasjen skaffes til veie av de test- og analyselaboratorier som skal være ansvarlige for de aktuelle test- og analyseresultatene.



### **Prøvetakingsfrekvens**

For å bestemme hvor hyppig man skal ta ut vannprøver må man kjenne til hvordan forurensningssammensetningen varierer i utslippet over tid. I tillegg må man kjenne til variasjonene i vannføringen. Man må ta flere prøver fra utslipp hvis sammensetning varierer over tid enn fra utslipp hvis sammensetning er konstant, fordi prøvetakingsfrekvensen må velges slik at man fanger opp svingningene i forurensningssituasjonen. I praksis bør en velge en prøvetakingsfrekvens med 5 - 10 prøver pr. time (dvs tidsintervallet mellom hver delprøve bør være 6 - 12 min.) når man har variasjoner i utslippet. Prøvetakingsfrekvens må også tilpasses de testprogram som skal gjennomføres. Dersom det f.eks. forekommer store svingninger i avløpsvannets sammensetning som følge av satsvise prosesser kan det være nødvendig undersøke akutt toksisitet i flere prøver tatt over korte tidsrom.

### **Prøvevolum**

Prøvevolumet må være tilstrekkelig stort slik at man kan få utført de ønskede tester og analyser. Dersom forurensningskonsentrasjonene er lave må prøven oppkonsentreres før analyse og til dette trengs større prøvemengder.

### **Lagring av prøver**

For oppnå best mulig resultater fra en utslippsmåling bør den måleansvarlige ta kontakt med test/analyselaboratoriet for å for å få informasjon om hvordan prøvene skal behandles før de leveres til laboratoriet.

I praksis betyr dette vanligvis at prøvene skal så raskt som mulig skal bringes til test/analyselaboratoriet. Prøver som skal brukes i økotoksikologiske tester må ikke tilsettes kjemikalier, mens prøver som skal analyseres kjemisk i enkelte tilfeller må tilsettes konserveringsmiddel.

Stabiliteten i avløpsvannsprøver er meget variabel og betingelsene for lagring må vurderes i hvert enkelt tilfelle. Vanligvis er avløpsvann som gjennomgått et biologisk rensetrinn mer stabile en ikke-rensede avløpsvann. Dersom avløpsvannet har en meget høy eller lav pH-verdi kan det bidra til å gjøre prøven forholdsvis stabil.

Prøvene skal vanligvis lagres kjølig (0-5 °C) og mørkt, men ved oppbevaring utover noen døgn må frysing vurderes.. Frysing stopper biologisk aktivitet i prøven men kan medføre utfelling av enkelte kjemiske forbindelser.. Dersom prøven skal oppbevares frosset bør den fordeles på delprøver til de enkelte tester slik at gjentatt frysing/tining kan unngås. Frysing i mindre volum er også gunstig ved at frysing og tining skjer raskere.

## 6. KRAV TIL RAPPORTERING

En økotoksikologisk rapport til SFT skal være så oversiktlig og lettlest som mulig, men uten at det faglige innholdet forenkles eller populariseres så mye at innholdet kan feiltolkes. Dette er ikke alltid enkelt, men man bør imidlertid kunne forvente at sertifiserte laboratorier og kompetente fagkonsulenter kan produsere rapporter som er lette å forstå samtidig som de er tilstrekkelig nyanserte slik at ikke resultatene forvrenges.

En økotoksikologisk og kjemisk rapport bør inneholde følgende:

- kort, konsist og nyansert sammendrag med konklusjon
- presentasjon samt diskusjon av resultatene
- presentasjon av usikkerheten i resultatene, ev. med beskrivelse av de mest usikre leddene i undersøkelsen
- kort beskrivelse av prøvetaking og lagring av prøvene, som skal kunne dokumenteres ved behov
- kort beskrivelse av prøveopparbeiding og de tester og testforhold eller kjemiske analyser som er brukt. Kvalitetssikring skal kunne dokumenteres ved behov
- ev. anbefaling til utfyllende undersøkelser
- navn, adresse, telefon- og telefaknumre til utførende laboratorier og konsulenter

Mange laboratorier har mer eller mindre ferdige rapporteringsmaler for sine standardtester og standardanalyser. Momentene ovenfor bør helst inngå i all rapportering til SFT. I spesielle tilfeller kan man be om utfyllende kommentarer eller grundigere diskusjon av enkelte punkter. Rapporters innhold og form er imidlertid også et kostnadsspørsmål. Store og utfyllende rapporter tar lengre tid å produsere og blir derfor dyrere.

Sammendraget av de funn og resultater som er fremkommet i undersøkelsen er det viktigste i hele rapporten. Sammendraget bør være en kort og konsis, men med mest mulig nyansert beskrivelse av resultatene. Faguttrykk bør unngås med mindre disse er allment forstått eller definert like ved. Det er viktig at også usikkerheten i resultatene blir nevnt i sammendraget.

For å kunne bruke resultatene er det viktig å vite i hvilken grad de er "sanne". Derfor bør usikkerheten i test- og analyseresultatene oppgis og helst også diskuteres i rapporten. Når resultatene skal brukes er det ofte viktig å vite hvilke ledd i undersøkelsen som bidrar med den største usikkerheten.

Enkeltstående resultater blir vanligvis interessante først når de settes inn i en sammenheng. Dersom det finnes slike sammenhenger, f.eks. tidligere erfaringer eller sammenligninger med tilsvarende resultater innenfor nærliggende problemstillinger, er det ønskelig at dette tas opp til diskusjon. Dette kan imidlertid være tidkrevende, særlig når denne kunnskapen ligger utenom laboratoriets eller konsulentens eget erfaringsområde.

Beskrivelsen av prøvetaking og prøvelagring bør inneholde opplysninger om sted, tidspunkt og varighet for prøvetakingen, hvordan prøven ble tatt samt hvordan og hvor lenge prøven er oppbevart før test eller analyse. Dersom spesielle eller ekstraordinære forhold gjelder ved prøvetakingen eller prøvelagringen, som f.eks. prøvens utseende, bør dette beskrives. Det kan ofte være nyttig også å få en beskrivelse av gjeldende prosess- og/eller utslippsforhold.

Rapporter bør inneholde en kort beskrivelse av de tester og analyser som er brukt og av test- og analysebetingelsene. Dette skal ved behov kunne dokumenteres. Videre bør kvalitets- sikringsystemene kort beskrives og ved behov kunne dokumenteres.

Iblant gir undersøkelsene/rapportene ikke tilstrekkelig svar på den aktuelle problemstillingen. Dette kan skyldes at undersøkelsen fra begynnelsen har vært for begrenset eller at det i løpet av undersøkelsen har blitt avdekket eller oppstått forhold som av ulike grunner har forhindret dette. Da kan det være nyttig å vite om det er mulig å komplettere undersøkelsen på en enkel måte for å forbedre resultatene. I noen tilfeller kan man oppnå dette med en mindre innsats i form av en liten tilleggsundersøkelse eller med noen få ekstra tester eller analyser.

Det er viktig at navn, adresse, telefon- og telefaknumre til de utførende laboratorier og konsulenter inngår i rapporten slik at man kan ta kontakt i tilfelle uklarheter.

Dersom man er usikker på hvordan de rapporterte funn skal tolkes, anbefales at man søker råd hos fagmiljøene. Det finnes vanligvis ikke noen enkle og entydige svar på hvilke effekter et forurensningsutslipp har i en resipient. Fagekspertene uttaler seg gjerne om sannsynligheten for at effekter oppstår, og på bakgrunn av dette må SFT ta sine avgjørelser.

## ORDFORKLARINGER OG FORKORTELSER

AA	Atomabsorpsjons spektroskopi
Advektiv transport	Transport i horisontal retning.
Aerob	Oksygenkrevende, oksygentilgang.
Akutt toksisitet	I tester for akutt toksisitet er testtiden kort i forhold til organismenes livssyklus.
Antagoni; antagonistisk	Motvirkende effekt; stoffer som har motvirkende egenskaper.
AOX	Adsorbent organisk halogen. vanligvis et mål på mengden klor bundet til organiske forbindelser.
BCF	Biokonsentrasjonsfaktor, dvs. konsentrasjonene av et stoff i en organisme i forhold til konsentrasjonen i det omgivende miljø.
Bioakkumulerbarhet	Opptak og lagring av stoffer i organismer i konsentrasjoner som overstiger konsentrasjonene i det omgivende miljø.
Biomagnifikasjon	Graden av oppkonsentrering i næringskjeden.
Biomarkør	Målbart effekt i miljøet som resultat av en påvirkning eller eksponering.
BOF	Biokjemisk oksygenforbruk. Et mål på mengden organiske forbindelser i en prøve som lar seg oksidere (nedbrytes) av bakterier.
COD	Chemical Oxygen Demand; kjemisk oksygenforbruk. Synonym til KOF
DOC	Dissolved Organic Carbon. Mål på mengden karbon i oppløste organiske forbindelser.
EC	Effect Concentration; konsentrasjon som har effekt på eksponerte organismer.
EC <sub>50</sub>	Den konsentrasjon som gir 50% effekt på en bestemt parameter (feks. vekst) i en toksisitetstest
EOCl	Ekstraherbart organisk klor. Vanligvis et mål på klormengden bundet til upolare (fettløselige) og vanskelig nedbrytbare organiske forbindelser.

Evertebrat	Virvelløse dyr.
GC	Gasskromatografi
GC/MS	Gasskromatografi-massespektrometri.
GLP	Good Laboratory Practice, brukt som kvalitetskriterium for god laboratoriepraksis.
Halogen	Fellesnavn på jod, brom, klor og fluor.
Henrys konstant	Fordelingskoeffisient av et stoff i lekevekt mellom atmosfæren og vann. (Bestemt av damptrykk og vannløselighet)
HPLC	Høytrykksvæskekromatografi.
Initialfortynning	Den gjennomsnittlige fortynning når avløpsvannets impuls er lik de omgivende vannmassenes impuls
KOF	Kjemisk oksygenforbruk. En måleenhet for mengden organiske forbindelser i en prøve som oksideres fullstendig av oksidasjonsmidlet kalium dikromat.
Kronisk toksisitet	Toksiske effekter som følge av eksponering over hele organismens livssyklus.
LC <sub>50</sub>	Konsentrasjoner som fører til at 50 % av forsøksorganismene dør i løpet av testperioden.
Letal	Dødelig.
Lipofil	Fettløselig.
LOEC	Lowest Observed Effect Concentration; Den laveste testede konsentrasjonen i en test hvor det er påvist en signifikant effekt.
log P <sub>ow</sub>	Logaritmen for oktanol-vann fordelingskoeffisienten for et stoff.
Karsinogen	Kreftfremkallende.
Kolloid	Stoff som fanges opp av membraner men passerer vanlige filtre.
Konservativt stoff	Stoff som er utsatt for ingen eller liten omvandling.
Mesokosmos	Modelløkosystem.
Meta-substituert	To atomer eller molekyler i en benzenring i posisjoner med en karbonatom imellom

Mutagen	Evne til å forårsake genetisk forandring i arvestoffet DNA.
NEC	No Effect Concentration; konsentrasjon som ikke påvirker eksponerte organismer.
NOEC	No Observed Effect Concentration; Den høyeste testede konsentrasjonen i en test hvor det ikke er påvist signifikant effekt..
NS	Norsk standard analyse- eller testmetode
Ortho-substituert	To atomer eller molekyler i nabo-posisjon i en benzenring
Para-substituert	To atomer eller molekyler i posisjoner midt imot hverandre i en benzenring
PEC	Predicted Environmental Concentration; beregnet eksponeringskonsentrasjon.
PNEC	Predicted No Effect Concentration; beregnet null-effekt-konsentrasjon.
Potensiell	Mulig, mistenkes å gjelde.
Priority Pollutants	En analyse som identifiserer og bestemmer en rekke miljøfarlige organiske forbindelser semi-kvantitativt.
Salinitet	Saltinnhold.
Sekundærfortynnings- sone	Resipientområde utenfor initialfortynningssonen.
Screening test	Enkle tester feks. for å påvise potensiell toksisitet.
Subletal	Skadelig, ikke dødelig.
Synergi; synergistisk	Forsterkende virkning; stoffer som forsterker hverandres virkning.
TEQ	Toksisitetsekvivalent, enhet som uttrykker "total mengde toksisitet" pr tidsenhet i et utslipp. (toksisitetseenheter(TU) multiplisert med strømning)
TLC	Tynnskiktskromatografi.
TOC	Totalt organisk karbon. Brukes som mål på total mengde organiske forbindelser.
TU	Toksisitetseenheter, som er uttrykk for hvor mange ganger en blanding må fortynnes for å redusere toksisiteten til et bestemt nivå (vanligvis 50%). For avløpsvann beregnes f.eks. TU som 100/EC <sub>50</sub> med EC <sub>50</sub> angitt som vol.%.

Turbulent transport	Transport der hastighet og retning varierer
Upolar	Uladet. Upolare forbindelser er fettløselige og er lite vannløselige.