

Energimyndighetens titel på projektet – svenska Biologisk effektanalys, för nyttjande av avfall som råvara	
Energimyndighetens titel på projektet – engelska Biological effect analysis, for the use of waste as raw material	
Universitet/högskola/företag BioImpakt AB	Avdelning/institution
Adress Dredevägen 18C	
Namn på projektledare Per-Erik Olsson	
Namn på ev övriga projektdeltagare STENA Recycling International AB, DGE AB, Miljötekniskt Centrum AB, Envix Nord AB, Örebro universitet	
Nyckelord: 5-7 st HP14, Biologisk riskanalys, Ekotoxikologi, Cirkulär ekonomi, modellsystem	

Förord

Projektet finansierades genom bidrag från det strategiska innovationsprogrammet RE:Source som finansieras av Energimyndigheten, Vinnova och Formas, International Recycling AB, DGE AB, Miljötekniskt Centrum AB, Envix Nord AB och Örebro universitet. Till projektet har vi knutit en referensgrupp med kompletterande bakgrund som består av Fil.Dr. Peter Pärt vid European Commission – joint research center i ISPRA Italien; Civ Ing Nils Hannerz, Ansvarig Industriell Bioekonomi, IKEM; Prof. Ian Cotgreave Strategisk utvecklare vid SWETOX Södertälje samt Helena Parkman, Kemikalieinspektionen.

Innehållsförteckning

Sammanfattning	2
Summary	2
Inledning/Bakgrund	3
Genomförande	5
Resultat	6
Diskussion	13
Publikationslista	14
Referenser, källor	14
Bilagor	14

Sammanfattning

I det avslutade förprojektet inom Re:Source utlysningen 2016 har vi arbetat med fyra delmoment för att utreda om det är möjligt att förbättra riskanalys av avfall för att möjliggöra återanvändning i produkter. De fyra delmomenten var 1) Utvärdering av befintligt regelverk; 2) Utvärdering och förslag till behandlingsmetoder för de två modellsubstanserna, fines och bottenaska; 3) Utvärdering av biologiska analysmetoder samt 4) en Strategiformulering för fortsatt utveckling av de biologiska metoderna för riskanalys.

I delmoment 1 utvärderades det befintliga regelverket för hantering av avfall. Det befintliga regelverk visar att det fortfarande finns oklarheter i hur t.ex. EU direktiv (EU1527/2014) HP14 ska tolkas. I dagsläget finns det inga riktlinjer eller framtagna analysmetoder för att på ett signifikant sätt säkerställa när ett avfall är farligt eller inte utifrån den ambitionen att använda material/avfall på ett så optimalt sätt som möjligt. Det gör att bedömningarna om vad som är farligt eller inte blir väldigt olika både mellan medlemsländerna men även mellan tillsynsmyndigheterna inom samma land.

För att kunna utveckla nya underlag för riskanalys av HP14 undersökte vi om en nyligen framtagen metod, baserad på analys av uttryck av markörgener, kunde vara en möjlig väg att gå för att förbättra underlaget för riskanalys. För detta krävdes att vi utförde en pilotstudie. I delmoment 2 utfördes ändamålsenlig lakning av två material, fines och flygaska för användning i biologiska analyser i delmoment 3. Resultaten från dessa studier visade att det föreligger brister på överensstämmelser mellan de kemiska data som används idag och de biologiska svar som erhöles med markörgenerna som är utvecklade för att visa på kopplingar mellan specifik exponering och effekt. Dessa resultat visar att det finns ett underlag för att utveckla de nya metoderna då dessa ger en starkare koppling mellan de i ett avfall ingående komponenterna och de effekter som de, var och en, bidrar till. Utifrån detta kommer vi att gå vidare med att utveckla nya miljörelevanta biologiska analysverktyg för en förbättrad riskanalys av avfall för att möjliggöra användandet i specifika applikationer och produkter.

Summary

In the completed pilot project in the Re: Source call in 2016, we have worked with four tasks to investigate whether it is possible to improve risk analysis of waste to enable recycling of products. The four tasks were 1) Evaluation of existing regulations; 2) Evaluation and proposed treatments for the two model substances, fines and bottom ash; 3) Evaluation of biological analysis, and 4) a formulation of strategy for further development of the biological methods for risk analysis.

In Part 1 the existing regulatory framework for the management of waste were evaluated. The existing legislation showed that there are still uncertainties in the example EU Directive (EU1527 / 2014) HP14 should be interpreted. In the current situation there are no guidelines or developed analytical methods for in a significant way to ensure when a waste is hazardous or not based on the ambition to use materials / waste in the most optimal way possible. Further, it potentially makes assessments on whether different wastes poses a risk or not very different both between member states but also between regulators within the same country.

In order to develop new basis for risk analysis of HP14, we investigated whether a newly developed method, based on analysis of the expression of marker genes, could be a possible way forward to improve the basis for risk analysis. This required that we performed a pilot study. In task 2 we performed leaching of two materials, fines, flyash for use in biological assays in task 3. Results from these studies showed that there is lack of matches between the chemical characterization methodology used today and the biological response obtained with marker genes that are designed to demonstrate the links between specific exposure and effect. These results show that there is a basis for developing the new methods as these provide a stronger connection between a waste components and the impact that they, each one contributes to. Based on this, we will proceed with the work to develop new environmentally relevant biological analysis tools for improved risk analysis for the use of waste to facilitate the use in specific applications and products.

Inledning/Bakgrund

För att kunna utnyttja avfall som råvara krävs antingen att mottagande anläggning har tillstånd att hantera avfall som råvara eller att avfallet kan omklassificeras till en produkt. Om avfallet blir en produkt gäller Kemikalielagstiftningen REACH som ställer höga krav på dokumentation och spårbarhet. Då REACH är anpassat för produkter och det i många fall är en blandning av REACH dokumenterade produkter i ett avfall är det en svår process att tillämpa REACH för en blandning av avfall. I Cirkulär Ekonomi Paketet som EU Kommissionen presenterade i december 2015 är förslaget att medlemsländerna skall kunna ta beslut på när avfall upphör att vara avfall och blir en produkt och samtidigt sätta begränsningar i användningen. Till exempel kan en återvunnen termoplast få användas för att tillverka vägarbetskoner men inte för att göra nappar.

Om ett avfall klassas som farligt minskar generellt möjligheterna att klassa det som produkt. Grunden för klassning av avfall som är fasta vid rumstemperatur är kemikalielagstiftningen, CLP vilken dock bygger på att materialet är en vätska. En av klasserna är Ekotoxicitet HP14 där avfallet klassas som farligt om halterna för olika ämnen och föreningar överstiger olika halter. Vad som vore mer naturligt är att använda tillgängligheten av dessa ämnen som grund för klassning och även ta hänsyn till platsspecifika förutsättningar om materialet skall användas istället för virginal material som exempelvis fyllnadsmassor, dränering, vägslänter, i betong eller asfalt. Nuvarande system med kemiska totalhalter som grund avspeglar sannolikt inte den verkliga biologiska risken för nyttjandet av alternativa råvaror istället för virgina. Genom att kombinera olika typer av tester, både kemiska och biologiska borde en mer realistisk grund skapas för beslut om nyttjande av avfall.

Nuvarande användning av biologiska testsystem för bedömning av farligt avfall (HP14) varierar mellan olika länder inom EU. Till skillnad från till exempel Frankrike och Finland, har Sverige ännu inte någon rekommendation eller uttalad rutin för att använda biologiska testmetoder för att bedöma miljöfarligheten hos avfall av kategorin HP14. Bland de länder som använder biologiska testmetoder använder några länder kombinationer av olika testmetoder, medan andra länder använder endast enstaka testmetoder. Som en reaktion på den bristande harmoniseringen av vilka metoder som används har förslag upprättats på kombinationer av olika testsystem i testbatterier som är anpassade för att täcka de

flesta ämnens toxikologiska egenskaper. I ett ekotoxikologiskt testbatteri bör testsystem som representerar land-och vattenmiljöer, bakterier, växter och djur ingå. Undersökningar har gjorts angående samstämmigheten mellan toxikologisk test och kemisk analys vid bedömning av farligheten hos avfall. För majoriteten av undersökta avfall fanns ingen korrelation mellan utvalda analyserade giftiga ämnen och utfallen i toxicitetstesterna. Den kemiska analysen av utvalda ämnen i undersökta avfall kunde därmed inte ge tillräcklig information för att rangordna avfallens miljöfarlighet. Avfall och därmed också extrakten av avfall har komplex sammansättning och innehåller många icke förutsägbara och ej analyserade organiska föreningar med okända egenskaper. Kemisk analys ger en fragmenterad bild och fokuserar enbart på de ämnen som väljs ut på förhand mot bakgrund av avfallens ursprung och valda ämnens kända farliga egenskaper.

Varken under tester av enskilda ämnen i laboratoriemiljö eller vid beräkning av en blandning bestående av flera ämnen utifrån toxikologiska referensvärden tas någon hänsyn till relevanta parametrar som har betydelse för verklig exponering i en naturlig miljö. Testbetingelser och testmedium (vanligen vatten inom ekotoxikologisk testning) i en laboratoriemiljö saknar hänsyn till betingelser och egenskaper som återfinns i miljön, däribland humusinhåll, komplexa sammansättningar av spårämnen som påverkar ett ämnes speciering och variation i pH, alla faktorer med betydande inverkan på många ämnens biotillgänglighet och därmed grad av exponering som kan förväntas. Det finns därmed i realiteten svag koppling till platspecificitet i en sådan riskanalys. Detta medför att rådande bedömningssätt för t.ex. avfall inte återspeglar en helt realistisk bedömning av avfallens inneboende egenskaper och hur farligt det kan tänkas vara. Detta är olyckligt när första punkten i avfallsdirektivets avfallshierarki är att återanvända och återvinna avfall och restprodukter. Med trubbiga bedömningsverktyg försvåras en samhällsomställning som strävar efter att motverka deponering av stora mängder avfall.

I det utförda pilot projektet har vi haft målet att ta fram moderna metoder baserade på biologisk effektanalys på utvalda organismmodeller för att öka kopplingen mellan exponering och effekt och därmed med större precision kunna avgöra miljöfaran hos avfall. Vi har använt oss av tre modeller för studierna. Dessa var en rundmask (*C. Elegans*), en vattenloppa (*Daphnia magna*) och ett ryggradsdjur (zebrafisk). Modellerna är väl etablerade vid Örebro universitet och hos BioImpakt AB. För att utvärdera metoderna använde vi oss av lakvatten framtaget hos MTC AB. STENA Recycling International AB bidrog med det material, flygaska och fines, som testades. Utvärderingen av resultaten utfördes gemensamt under ledning av Envix Nord AB och DGE AB. I Sverige genereras årligen 120 000-150 000 ton SLF fines (Shredder Light Fraction där fines är en finfraktion <10 mm) i samband med fragmenteringen av skrotade bilar, uttjänta vitvaror, järn- och stålmaterial, byggnadsmaterial etc. SLF separeras från större och tyngre fraktioner då det fragmenterade materialet passerar under en cyklon och lätta partiklar dras med luftströmmen för att sedan siktas och separeras med magnet. Den största andelen av dessa så kallade magnetisk fines, går till deponi. Om man kan använda fines istället för att lägga det på deponi skulle potentiellt minst en miljard kronor kunna sparas och användas till andra ändamål. Dessutom skulle användandet av fines leda till att mindre virgina material krävs vilket även det ger en ekonomisk vinning och utgör

grunden för en cirkulär ekonomi. Utifrån detta perspektiv är det av stor vikt att de tester som ska ligga till grund för riskklassificering av avfall har hög upplösningsförmåga så att det blir möjligt att identifiera orsakerna till iakttagna effekter.

Genomförande

Projektet var uppdelat i 4 delprojekt, där resultaten från 3 av dessa (analys av regelverk, lakning och biologisk analys) utgjorde grunden för utveckling av förfinad riskanalys av avfall för att stärka möjligheterna för optimerad cirkulär ekonomi.

Projektet var uppdelat i fyra delprojekt :

1. Utvärdering av befintligt regelverk för riskklassificering av avfall med målet att identifiera hur plats och produktspecifik biologisk analys av risk kan kopplas till nuvarande regelverk.

Utvärderingen av de befintliga regelverken syftade till att, inom dagens lagstiftning formulera en säker användning av återvunna produkter. Projektets mål var att förbättra klassning av avfall/produkter för avsedd användning och säkerställande av produktens miljö- och hälsomässiga säkerhet för denna användning inom aktuellt regelverk.

2. Utvärdering och förslag till behandlingsmetoder för de två modellsubstanserna, fines och bottenaska.

De flesta lagningsmetoder tar inte tillräcklig hänsyn till tillgänglighet och biotillgänglighet, vilket leder till att mängden föroreningar som ingår i den kemiska analysen och den fraktion av föroreningar som är tillgänglig i miljön kan vara olika. Det behövs därför metoder och strategier som tar ett helhetsgrepp på lakning, tillgänglighet, kemisk analys och biologisk effektanalys. Det är viktigt att dessa studier utförs på ett sådant sätt att den information som erhålls inom varje delmoment kan korreleras till resultaten av föregående moment och i slutändan till det ursprungliga provet så som det förekommer i miljön.

3. Utvärdering och utveckling av biologiska analysmetoder för produktspecifik riskklassificering av avfall.

Idag används ett flertal kostsamma ekotoxikologiska metoder där kopplingen mellan specifik exponering och biologisk effekt är väldigt svag. Detta är till följd av att metoderna mäter generella svar. De mätmetoder vi använder är mycket känsliga för effekter på biologiska system. Vi mäter förändringar i genuttryck till följd av en miljöpåverkan. Detta kan göras på organismer från olika trofiska nivåer. Genuttrycken är den första reaktion ett biologiskt system får som kan ge fysiologiska förändringar. Dessa manifesteras sedan ytterligare via proteiner, organ, organism och ekosystem. Alla genuttryck resulterar inte i en förändring av ekologin men kan ses som en första varningssignal och därför är metoden mycket känslig. Beroende på vilka gener som uttrycks kan man också dra slutsatser om vilka konsekvenser en förorening får på en organism vilket ger värdefull kunskap om konsekvenserna från exponering av olika ämnen. Genom att utveckla dessa metoder, för analys av effekter i miljön, kan vi inkorporera den specifika situationen så att en produkt eller ett avfall kan klassas beroende på dess användningsområde. Metoderna användes i samband med lagningsförsöken för att avgöra toxicitet och koppla den till de ingående substanserna.

4. Utveckling av riskanalysmetoder baserade på plats och produktspecifik riskanalys. Den sammanställda informationen rörande nuvarande regelverk och resultaten från lakningsförsök med biologisk analys kommer att ligga till grund för en bedömning av de föreslagna metodernas användbarhet. Det är av stor vikt att en förändring/utveckling av förbättrade metoder för ekotoxikologisk analys tas fram för att underlätta HP14 bedömning av farligt avfall. För att öka precisionen i bedömning och riskanalys av avfall och andra komplexa blandningar krävs nya verktyg för att plats- och situationsspecifikt kunna avspegla vilken risk ett avfall/komplex blandning utgör om vi ska nå en säker, hållbar och cirkulär ekonomi. Vårt mål är därför att utveckla ett system som har mycket stor känslighet och precision, där orsak och verkan kopplas samman och möjliggör säker bedömning av farlighet.

Resultat

I det utförda projektet ingick 4 delmoment. Resultaten från delmomenten redovisas nedan.

Delmoment 1

Utvärderingen av de befintliga regelverken syftade till att, inom dagens lagstiftning formulera en säker användning av återvunna produkter. Projektets mål var att förbättra klassning av avfall/produkter för avsedd användning och säkerställande av produktens miljö- och hälsomässiga säkerhet för denna användning inom aktuellt regelverk. Det regelverk, Avfallsdirektivet, för avfall som gäller i Sverige idag utvärderades.

Avfallsdirektivet beslutades inom EU 2008 och ersatte tre gamla direktiv. Avfallsdefinitionen är oförändrad. Däremot infördes ett förtydligande av avfallsbegreppet genom en ny artikel om vad som krävs för att en restprodukt ska kunna anses vara en biprodukt och inte avfall. I avfallsdirektivet lyfter man fram avfallshierarkin som prioriteringsordning för lagstiftning och politik på avfallsområdet. Prioriteringsordningen innebär att man helst ska förebygga avfall, i andra hand återanvända det, i tredje hand materialåtervinna det och i fjärde hand att avfallet går till energiåtervinning det och i sista hand kommer bortskaffande. Ordningen gäller under förutsättning att det är miljömässigt motiverat och ekonomiskt rimligt.

Det har nyligen gjorts ändringar i miljöbalken och dessa började gälla den 2 augusti 2016. Avfallshierarkin har på ett tydligare sätt införts genom att man införde en skyldighet i 2 kap. om att vidta avfallsförebyggande åtgärder och att i 15 kap. ange den prioriteringsordning som ska gälla vid behandling av avfall. Avfallsförordningen har ändrats 1 jan 2016 med anledning av arbetet i EU-kommissionen med att uppdatera och ändra de farliga egenskaperna och avfallslistan för klassning av avfall. Den ändrades senast den 31 juli 2016 för att anpassas till nya EU-bestämmelser om beräkning av en förbränningsanläggnings energieffektivitet. Avfallslistan innehåller 839 avfallstyper indelade i 20 grupper utifrån ursprung. 200 av dessa presenteras i par som antingen inte farligt/farligt avfall beroende på innehåll av farliga ämnen. I bilaga III till direktiv (EU)1527/2014 finns de 15 listade egenskaper som gör att avfall klassificeras som farligt avfall. Som en del av listan återfinns HP14 Ekotoxikologi. Avfall som omedelbart eller på sikt utgör eller kan utgöra en risk för

en eller flera miljösektorer. Arbetet med egenskap H14 (ekotoxicitet) pågår dock fortfarande.

Det är i första hand verksamhetsutövaren som gör bedömningen av om ett avfall har upphört att vara avfall. I den löpande tillsynen av återvinningsverksamheter är det den lokala myndigheten som har tillsynsansvar över när avfall upphör att vara avfall. Vid bedömning om det är avfall eller inte är det avfallsförordningen som är styrande.

I dagsläget finns det inga riktlinjer eller framtagna analysmetoder för att på ett signifikant sätt säkerställa när ett avfall är farligt eller inte utifrån den ambitionen att använda material/avfall på ett så optimalt sätt som möjligt. Det gör att bedömningarna om vad som är farligt eller inte blir väldigt olika både mellan medlemsländerna men även mellan tillsynsmyndigheterna inom samma land.

När ett avfall genomgått en återvinningsprocess så att det upphört att vara avfall klassas det som en kemisk produkt eller en vara. Kemikalieinspektionen är ansvarig tillsynsmyndighet när det gäller kontroll av att den kemiska produkten/varan uppfyller kemikalie- och produktlagstiftning t.ex. Reach och CLP.

Cirkulär ekonomi: EU har lagt fram ett åtgärds paket där man ska sträva efter att få resurser att cirkulera mer i samhället. Återanvändning av restprodukter blir då en förutsättning för att det ska kunna realiseras. Genom att tala om ”riskfritt” istället för ”giftfritt” blir det möjligt att klassa om ett avfall till en produkt i de fall då man kan säkerställa riskfri användning dvs specificerar vad produkten får användas till så som man diskuterar inom REACH-förordningen. Det lagrum som kan användas när det gäller ekotoxikologisk testning är HP 14 Ekotoxikologi. Avfall som omedelbart eller på sikt utgör eller kan utgöra en risk för en eller flera miljösektorer. Klassificering enligt den farliga egenskapen HP 14 görs på grundval av de kriterier som anges i CLP-förordningen.

Testmetoder: De metoder som ska användas beskrivs i rådets förordning (EG) nr 440/2008¹ och i andra relevanta CEN-noter eller andra internationellt erkända testmetoder och riktlinjer. I CLP förordningen står det i avsnitt 4.1.1.2.2 – ”Data ska helst härledas med hjälp av standardiserade metoder. I praktiken ska data från andra testmetoder, som nationella metoder, också användas Om de kan betraktas som likvärdiga. Om det finns giltiga data från icke-standardiserade test eller från metoder utan testning ska dessa övervägas vid klassificeringen förutsatt att de uppfyller kraven i avsnitt 1 Bilaga XI förordning (EG) nr 1272/2008. Toxicitetsdata för både marina arter och sötvattensarter, betraktas i regel som tillämpliga för klassificerings ändamål förutsatt att de testmetoder som används är likvärdiga. Om det inte föreligger några sådana uppgifter ska klassificeringen baseras på bästa föreliggande data. Tolkningarna av dessa regler går isär mellan medlemsländerna så i vissa medlemsländer är man mer benägen att acceptera toxikologiska bedömningar än i andra där man utgår från högsta tillåtna totalhalter av listade ämnen.

Delmoment 2

Vid riskbedömning av olika material som ska deponeras, nyttiggöras eller efterbehandlas används mätningar av totalinnehållet av föroreningar i materialet eller olika typer av laktester. Det är dock välkänt att det för både oorganiska och organiska ämnen endast är en del av det totala innehållet som är tillgängligt, och samma sak gäller de ämnen som hamnar i lakvätskan. Till detta ska läggas de skillnader som av praktiska och metodologiska skäl uppstår vid kemisk analys jämfört med toxikologiska tester av de föroreningar som finns i provet eller i lakvätskan. Om syftet är att utvärdera materialet så som det kommer förekomma i miljön så kommer detta förfarande att leda till fler viktiga skillnader:

- Den flesta lakmetoder tar inte tillräcklig hänsyn till tillgänglighet och biotillgänglighet, vilket leder till att mängden föroreningar som ingår i den kemiska analysen och den fraktion av förorenings som är tillgängliga i miljön kan vara olika.
- De kemiska analyserna kan utföras vid betingelser som är optimala utifrån löslighet, etc, av de föroreningar som är av intresse, medan biologiska tester ofta utförs i en vattenlösning. De biologiska testerna och de kemiska analyserna utförs alltså i olika miljöer.
- Kemisk analys är oftast inriktad på specifika föreningar, och kommer därmed inte omfatta alla de föreningar som finns i provet.
- I miljön ett stort antal föreningar samexistera i vad som kan bäst beskrivas som en komplex blandning av föreningar. Dessa föreningar kan interagera på ett antal olika sätt vilket resulterar i en kombinerad negativ eller positiva effekter som är svårt att uppskatta genom att utföra tester på enskilda föreningar.

Till detta kommer en rad praktiska skillnader mellan olika laktester, t.ex. finfördelning/siktning av provet, temperatur, tid för lakning, mängd lakvätska, pH eller andra tillsatser, behandling av lakvätskan (t.ex. filtrering), kolonn eller skaktest, åter-cirkulering av lakvätska, etc. För en god jämförelse mellan olika prover är det därmed viktigt att laktesten utförs på ett likande sätt så att alla i provet ingående delar (större eller mindre matriskomponenter, oorganiska och organiska föroreningar, etc) är urlakade under samma kemiska och fysikaliska betingelser.

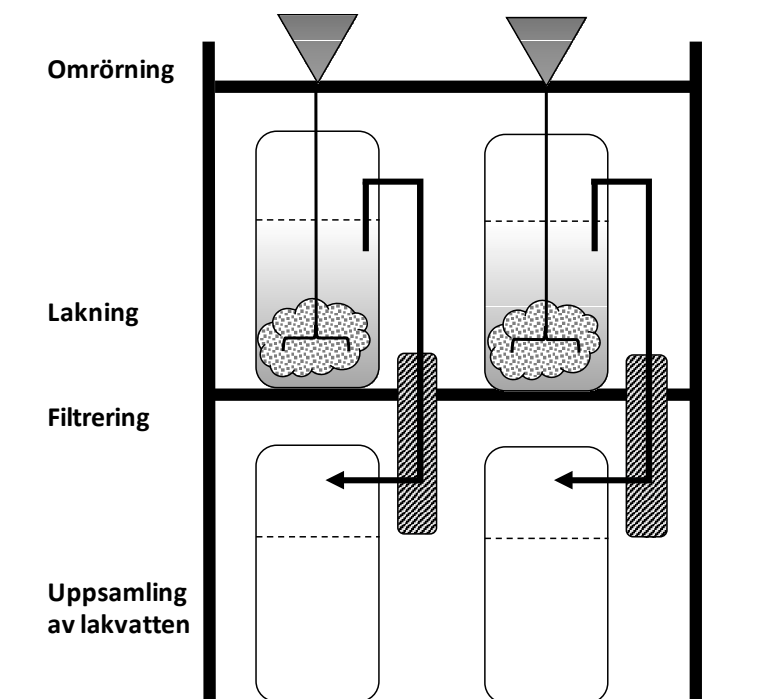
Efter en genomgång av olika möjliga lakmetoder valdes SS-EN 14735:2005, Karakterisering av avfall – Preparering av avfallsprover för ekotoxikologisk testning, som standardmetod för projektet. Det är viktigt att notera att SS-EN 14735:2005 är utformad för att ge en skattning av den i vatten tillgängliga fraktionen av toxiska komponenter i avfallet. Metoden simulerar därför en rimlig men avgränsad delmängd av möjliga förhållanden och miljöer. Metoden har flera fördelar, den sker under kort tid (24h), består av ett enkelt steg, inkluderar inte justeringar av pH eller andra parametrar under lakning, och utförs vid L/S 10 vilket resulterar i relativt stora mängder lakvatten i förhållande till ingående prov.

Några mindre justeringar av SS-EN 14735:2005 inkommerades i förstudien med hänsyn till ingående prov-material och syftet med projektet, vilka beskrivs nedan.

Förbehandling: Enligt SS-EN 14735:2005 ska proverna siktas eller finfördelas till 4mm innan lakning, men det skulle utesluta eller förändra en stor del av provmatrisen för aktuella material, framför allt prov från Fines-materialen. Därför har proverna lakats utan förbehandling. Genom att använda obehandlat ursprungsmaterial ger laktesterna en rättvisande bild av hur materialen kommer laka i verkligheten.

Filtrering: Enligt SS-EN 14735:2005 ska klarfasen tas av från proverna efter sedimentering och filtreras genom 0,45 µm filter under tryck/vakuüm. I aktuella matriser blir det ingen tydlig klarfas och därmed fick större delen av provet, inkl. partiklar och organiskt material, genomgå filtrering.

Ingående provmaterial i laktesterna (ca 1 kg) insamlades för att motsvara inkomna prover på ett representativt sätt (ca 50-100 kg). Provmängd för laktesterna utgick från behovet av lakvätska till de biologiska effektanalyserna och sattes till att resultera i 10L färdigfiltrerat lakvatten. En anpassad försöksuppställning användes för att nå detta mål. Använd försöksuppställning illustreras i figur 2.



Figur 2. Illustration över försöksuppställning. Omrörning skedde under 24h. Vid filtrering användes peristaltiska pumpar för att minimera kontaminering och påverkan av provet. Filtrering skedde genom 0,45µm filter.

Som framgår av tabell 1 och 2 var resultaten av de kemiska analyserna i nivå med vad som är förväntat vid lakning av denna typ av material. Proverna har en komplex sammansättning och innehåller höga halter av olika metaller. Obehandlad aska innehöll högre halter klorider jämfört med de andra proverna medan Fines innehöll höga halter DOC. Genom att lakning skedde i icke modifierat vatten som sedan filtrerades kunde lakvattnet användas i de biologiska testsystemen utan ytterligare anpassning, och även karakteriseras genom kemisk analys. Det gör att kopplingen mellan resultaten från laktesterna, de kemiska analyserna och de biologiska testerna bibehålls. Genom att laktesterna utfördes på obehandlade prover kan dessutom resultaten i slutändan kopplas till det ursprungliga materialet så som det föreligger i miljön. Analys av lakvatten utfördes vid BioImpakt AB och Örebro universitet. Resultaten ges i tabell 1 och tabell 2.

Tabell 1. Kemisk analys av lakvatten. Grundämnen.

Metall	Flygaska				Fines	
	Akvarievatten	OBH RGA	VF17-24	VF25-32	SLF	FRAG
mg/l						
Ca	22,224	1122,934	613,387	638,942	104,944	130,667
K	2,959	3962,280	176,161	113,548	38,844	32,654
Mg	5,647	0,218	115,386	143,594	273,713	95,800
Na	41,026	3439,580	95,599	97,753	106,477	95,989
µg/l						
Ag	0,100	0,092	0,123	0,082	0,016	0,010
Al	17,271	298,573	200,701	837,109	127,245	104,580
As	0,250	0,846	18,760	9,203	3,527	3,725
Ba	4,498	322,270	50,132	46,201	70,040	47,293
Be	0,040	0,040	0,013	0,040	0,040	0,059
Bi	0,119	0,402	0,000	0,312	0,289	0,474
Cd	0,022	0,978	4,900	1,171	2,059	0,561
Co	0,027	0,995	0,644	0,428	3,065	1,911
Cr	0,607	412,592	2,987	1,246	3,360	0,836
Cu	4,378	56,671	8,372	2,794	554,641	280,765
Fe	0,173	4,204	4,540	2,652	334,104	17,440
Ga	0,180	16,257	3,287	4,774	2,331	1,623
Li	1,853	971,354	11,516	4,510	169,662	314,050
Mn	0,209	4,710	59,241	14,581	527,867	339,074
Mo	0,335	532,281	24,198	87,163	99,419	46,527
Ni	0,428	9,315	6,295	4,397	54,439	39,471
Pb	0,229	0,334	28,964	8,460	10,451	0,619
Rb	2,702	8524,374	344,091	208,459	43,397	38,105
Se	9,400	236,151	29,399	24,538	2,890	2,600
Sr	63,333	4547,300	2001,355	1747,240	549,522	387,029
Te	0,190	0,326	0,173	0,027	0,023	0,170
Tl	0,030	2,983	0,957	0,461	0,101	0,078
U	0,181	0,011	0,301	0,488	0,025	0,015
V	0,110	4,611	0,261	0,887	0,147	0,023
Zn	1,167	13,826	26,656	14,371	1351,873	173,459

OBH-RGA = Obehandlad flygaska. Detta askaprov motsvarar "ingångsaska". **VF 17-14** = Behandlad flygaska prov 1. **VF 25-32** = Behandlad flygaska prov 2. **FRAG** = Fragmenterade fines. **SLF** = SLF fines.

Tabell 2. Kemisk analys av lakvatten. Vattenkemi.

Parameter	Enhet	Flygaska			Fines	
		OBH-RGA	VF17-VF24	VF25-VF32	SLF	FRAG
DOC	mg/l	0,82	5,91	5,15	195	87,8
turbiditet	FNU	1,3	0,43	6	63	6,8
konduktivitet	mS/m	>1000	333	335	129	125
CODMn	mg/l	23,9	2,6	2,1	87,5	42,8
ammonium	mg/l	0,376	0,13	0,107	0,13	0,924
fluorid	mg/l	1,43	3,89	5,88	4,78	1,56
klorid	mg/l	8300	209	264	98,5	84,5
sulfat	mg/l	2440	1430	1330	302	352

Delmoment 3

I projektet gjorde vi pilotstudier på lakvatten från två startmaterial som beskrivs i delmoment 2. Avsikten var att testa dessa lakvatten på två biologiska modellsystem. Dessa var en rundmask (*C. Elegans*) och ett ryggradsdjur (zebrafisk). Medan zebrafisk tar upp ämnen via vattnet tar rundmasken upp ämnen via vatten och genom att äta bakterier. Eftersom lakvattnen kan innehålla en betydande del komplexbundna ämnen, som till stor del är kopplat till DOC (Tabell 1), valde vi att lägga till ytterligare en biologisk modellorganism, en vattenloppa (*Daphnia magna*) som filtrerar sin föda och därigenom har ett större upptag av partikulärt material. Genom att lägga till *Daphnia magna* kunde vi avgöra om partikulärt material påverkade analyserna.

Exponering av modellorganismerna för lakvattnen utfördes genom standardiserade metoder etablerade vid både Örebro Universitet och BioImpact AB. Zebrafisk exponerades med båda lakvattnen från dag 0 (befruktning) till dag 7. *Daphnia magna* exponerades för båda lakvattnen vid 3 dagars ålder i 24 timmar. För *C. elegans* valde vi att utföra 2 olika exponeringar, men endast för lakvatten från flygaska. *C. elegans* exponerades dels i 6 timmar vid ett stadie som benämns L4 och dels 48 timmar för att täcka utveckling från stadie L1 till L4.

Resultaten visade att den obehandlade flygaskan, OBH-RGA, var toxisk för zebrafisk och *Daphnia magna* och orsakade hög dödlighet. Därför användes inte denna fraktion i vidare tester. Testerna av flygaska som har lägre DOC än fines gav effekter på zebrafisk. Exponering för flygaska resulterade i en dödlighet på cirka 50% medan exponering för fines resulterade i något lägre dödlighet (30-50%). En svag uppreglering av metallreglerade gener kunde iakttas hos zebrafisk exponerade för flygaska. Uppregleringen var svag och står inte i paritet till effekterna på dödlighet, varför man kan anta att de huvudsakliga fysiologiska effekterna av flygaskan inte är metallberoende.

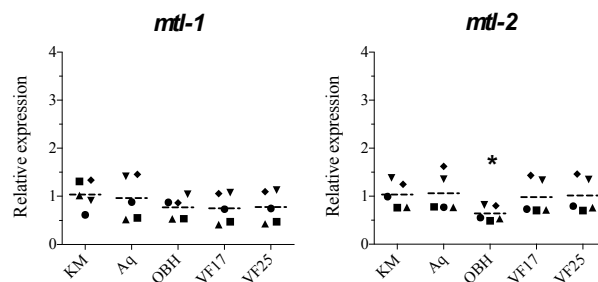


Figurerna visar uttryck av mt1 (metallothionein) och mtf (metalltranskriptionsfaktor), två gener som svarar på metallexponering hos zebrafisk.

Daphnia magna, som är en filtrerare var mycket känsligare för lakvattnen och uppvisade hög dödlighet i spädningar ned till 12,5%. Analys av *Daphnia magna* gjordes dock på 50% spädning. För *Daphnia magna* gav fines starkare respons än flygaska. Fines har ett högre DOC och eftersom *Daphnia magna* är filtrerare resulterar det i ett högre upptag ur kolloidalt material. Analys av dessa två modellorganismer visar ett det finns en koppling till partikulärt material, DOC, och metallinnehåll. Kopplingen mellan genanalys och dödlighet i traditionella tester var svag. Dödlighet kan inte förklaras mekanistiskt på ett tydligt sätt. Faktorer bakom dödlighet måste därför studeras ytterligare.

C. elegans testades endast på flygaska. Samtliga flyaskeprover resulterade i hög dödlighet och tillväxthibering i L1 (tidig utveckling) stadiet. Analys av genuttryck

gjordes därför endast i L4 stadiet. Hos *C. elegans* var dock effekterna av fines, som har hög DOC, väldigt små.



Figurerna visar uttryck av *mtl1* (metallothionein 1) och *mtl2* (metallothionein 2), två gener som svarar på metall exponering hos *C. elegans*.

Sammantaget visar exponeringsstudierna att samtliga lakvatten gav dödlighet/tillväxthibering men endast svaga svar på metaller i genregleringsstudierna. Fines hade högre halter av metaller än flygaskan men gav endast metallberoende effekter hos *Daphnia magna* som är en filterare. Sammantaget antyder detta att metallerna inte är tillgängliga utan bundna till ”partiklar” i lakvattnen och att de största effekterna är beroende av DOC innehållet. Därför krävs vidare studier för att utreda sambandet mellan metallinnehåll och DOC innehåll i lakvatten för att kunna avgöra om metallerna utgör ett problem.

Delmoment 4

Resultaten i projektet visar att effekterna som uppmätts från vid biotester på lakvatten är mångfacetterade och komplicerade, men möjliga att tolka i stor utsträckning. Strategin att testa lakvatten från ett avfall för klassificering förs fram som ett adekvat att riskbedöma och klassificera avfall. Klassificering handlar om att bedöma lämpligheten för vidare hantering, t.ex. återvinning. Vi vill föra fram konceptet om applikationsspecifik återvinning som en acceptabel väg mot ökad möjlighet till återvinning och med föreliggande testmetodik som grund för klassificering. Ett enkelt exempel ges där vi antar att negativa effekter uppstår från ett avfall. Om klassificeringsmetodiken kan avgöra vilket ämne eller grupp av ämnen som effekten orsakas av kan känsligheten för dessa ämnen i omgivning/recipient avgöra återvinningen lämplighet. Anta att en aska innehåller förhöjda metallhalter, men som i laktester inte lakas ur i relevant mängd och att det inte går att påvisa negativa effekter specifikt från metaller. Då ska återvinning p.g.a. metallinnehåll inte utgöra hinder för återvinning/återanvändning. Om samma avfall t.ex. uppvisar stor utlakning av salter är återvinning vid en känslig sötvattensrecipient olämplig, men däremot vid en marin recipient kan utlakad mängd salt vara helt försumbar och inte medför ökad risk för omgivningen. Det applikationsspecifika återvinnings-/återanvändningsförfarande förutsätter vidare att graden av exponering från andra exponeringsvägar (inandning damm, direktkontakt, oralt intag, via dricksvatten) inte medför oacceptabel risk.

Metodik för bedömning och klassificering av avfall måste utgå från andra applikationsspecifika förutsättningar. T.ex. om ett avfall ingår som en komponent i

en produkt ska produkten som helhet testas och graden av exponering bedömas för användningsområdet, jämför t.ex. en aska och en monolitisk produkt där askan finns som komponent i en ingjutning. I ett sådant ska den monolitiska produkten testas avseende lakningsegenskaper och bedömning om återvinningens-/återanvändningens lämplighet utgå från dess lakningsegenskaper samt efterföljande biotestning av detta. Med andra ord ska både platsens betydelse och vilken applikation som ett avfall återvinns-/återanvänds ges ökat utrymme för slutlig bedömning av olika avfalls lämplighet för återvinning-/återanvändning.

Vilka biotester som ska ingå vid testning kräver ytterligare fördjupning, men inom klassisk ekotoxikologi är utgångspunkten att ett testbatteri som minimum ska innefatta arter som representerar primärproducenter (t.ex. alger och fytoplankton), primära konsumenter samt nedbrytare. Men för att representera ett ekosystem behövs också representanter från högre trofnivåer och en balans måste hittas vid testning för att erhålla adekvat information samtidigt som kostnaden ska vara rimlig.

Vad gäller kostnader är det också fel att låsa sig vid att det får kosta en viss summa och att alternativ testmetodik jämförs med kostnaden för kemisk analys som i sammanhanget alltid är billig. Men biotestningens mervärde och funktion måste ställas i relation till vilka potentiella vinster som det kan medföra om det möjliggörs återvinning-/återanvändning istället för deponering som vi bör eftersträva att minska. Och på samma sätt att okända relevanta risker identifieras med biotester och som kemisk analys inte kan förutspå med följd att potentiellt riskfyllda användningsområden medges för avfall som har farliga egenskaper.

Vi vill fortsätta arbetet med att fördjupa oss i ny bedömningsmetodik baserad på lakning och biotester med modern miljödiagnostik för samma avfall som studerats i denna förstudie. Där vill vi studera mer specifika frågeställningar som matrisen och abiotiska faktorerers betydelse i utfallet i toxiska effekter ska studeras för att öka förståelsen av orsak-verkans samband. Vidare vill vi utveckla och formulera en strategi för hur slutlig klassificering av avfall kan gå till utifrån beroende på val av applikation.

Diskussion

Genomgång av regelverken runt avfall visar att det saknas harmonisering för bedömning av egenskapen H14 inom. Eftersom EU gemensam lagstiftning medger medlemsländerna att själva utveckla metodik för bedömning av avfall varierar valet av tillämpad metodik inom EU. I Sverige saknas vägledning och standard för harmoniserad bedömning av avfall genom tillämpning av biologiska analysverktyg. Frågeställningen i sig är självklart inte trivial och det är en starkt bidragande orsak varför sådan vägledning ännu saknas. Vad som de flesta sakkunniga på området är eniga om förutom att frågan om bedömningsnycklar är komplex är att biologiska analysverktyg mäter egenskaper hos komplexa blandningar som kemisk analys aldrig kan reflektera på ett adekvat sätt (samverkans effekter, effekter av okända ämnen etc.). Även om tillämpning av klassificering utifrån kemiskt totalinnehåll är pragmatiskt och kostnadseffektivt är det sannolikt ett stort hinder i ambitionen om att öka återvinning/återanvändning i det cirkulära ekonomi konceptet. Det är knappast heller försvarbart ur ett vetenskapligt perspektiv där vi ska sträva efter att fatta välgrundade efter största möjliga kunskapsunderlag för en ansvarsfull

samhällsutveckling. Därför måste samhället genomgå ett paradigmskifte inom detta område för att acceptera tillämpning av nya moderna och alternativa metoder för klassificering och riskbedömning av avfall. Som parallell kan nämnas vattenlagstiftning där det skett stora förändringar på kort i hur risker med metaller och organiska ämnen bedöms i olika medier och där begreppet och hänsynen till biotillgänglighet finns införlivat i styrande föreskrifter för bedömning av både kemisk och ekologisk status i miljön. Detta projekt är en seriös ansats i att tillämpa användbar modern avancerad miljödiagnostik där ökad koppling mellan exponering och effekt erhålls. Många frågor återstår att fördjupa sig inom för att förstå orsaken till uppmätta effekter för studerade avfallsslag, men även varför effekter trots halter långt över litteraturens PNEC värden för olika ämnen och där man på förhand kan förvänta negativa effekter. Därför föreslås fortsatta studier av några identifierade kärnfrågor som vi vill söka svar på och som bedöms ha hög relevans för att öka förståelsen för de studerade avfallens inneboende egenskaper. Därmed ökar också precisionen i riskbedömning och klassificering av avfallen.

Ur ett energiperspektiv finns flera kopplingar som kan diskuteras. Många askor har idag svårigheter i återvinningsprocessen när bedömning utförs ur ett renodlat kemiskt bedömningsperspektiv. Ökad kunskap om askornas egenskaper kan potentiellt öka återvinning mångfald. Som konsekvens innebär det att förbränning av hållbara energislag av icke fossil natur kan öka om askåtervinning medges i större utsträckning. Tillämpning av ny bedömningsmetodik har också potential att leda till förändrad klassificering av vissa organiska slammer, t.ex. rötslam och bioslam från industriella processer som idag i hög utsträckning förbränns och energiåtervinns. Dessa våta bränslen är ineffektiva att förbränna och vid bedömning med alternativa biologiska bedömningsverktyg kan potentiellt återvinning av dessa slammer öka genom annan återvinning än energiåtervinning genom förbränning.

Publikationslista

Eftersom detta var ett 6 månaders pilotprojekt har målet inte varit att producera publikationer.

Referenser, källor

¹Kommissionens förordning (EG) nr 440/2008 av den 30 maj 2008 om testmetoder enligt Europaparlamentets och rådets förordning (EG) nr 1907/2006 om registrering, utvärdering, godkännande och begränsning av kemikalier (Reach)

Bilagor

Administrativ bilaga