



# Avfall från dricksvattenkvalitetslaboratorium

En studie om avfallsklassning och hantering av m-Endo agar LES vid Stockholm Vatten

Elin Agnemo

**Student**

Examensarbete i miljö- och hälsoskydd 15 hp

Avseende kandidatexamen

Rapporten godkänd: 7 november 2014

Handledare: Åsa Berglund (EMG) och Ellen Edgren (Stockholm Vatten)



# Förord

Jag vill först och främst tacka Ellen Edgren, Laboratorieingenjör vid Stockholm Vatten, som kläckte idén om ämnet till det här examensarbetet. Tack för det stöd och den handledning jag fått genom hela processen. Jag vill också tacka Inga Nordwall, Laboratorieingenjör på Lovö vattenverk, för att jag fått husera på labb med mina experiment och ställt upp och svarat på mina frågor.

Jag vill rikta ett särskilt tack till Åsa Berglund, Universitetslektor vid Umeå universitet, som varit min handledare under arbetets gång. Tack för god handledning och för all bra och konstruktiv kritik jag fått. Till sist men inte minst vill jag tacka min familj och min sambo Fredrik Söderström för allt stöd och den hjälp jag fått under den här tiden. Tack för all choklad, uppmuntrande ord och den tekniska support jag fått när det känts svårt.

Stockholm, oktober 2014

Elin Agnemo

# **Title: Waste from microbiological analyze of drinking water. A report how to categorize and manage waste from m-Endo agar LES at Stockholm Vatten**

Author: Elin Agnemo

## **Abstract**

The purpose of the study was to determine how the waste from m-Endo agar LES (LesEndo) should be categorized and managed, due to its content of the carcinogenic substance basic red 9 in basic fuchsine. The information was obtained by studying legislation and a laboratory practical was performed to verify, if basic fuchsine could remain in LesEndo agar after being heated. This was important to know for the further interpretation how to categorize and manage the waste according to the legislation. LesEndo agar was autoclaved at 121 °C for 15 and 30 minutes. *E. coli* and coliform bacteria was put to grow on the LesEndo agar. The results from the study showed that all replicas had coliform colonies, which appeared with a metallic fuchsine-sheen. This verified that basic fuchsine was unchanged and that there was no significant difference in growth between replicas with heated agar and the control. The total concentration of basic fuchsine in LesEndo agar was 0.08%. To be categorized as hazardous waste the threshold value for basic red 9 is 0.1%. According to a strict interpretation of the legislation, waste from used LesEndo agar should not be categorized and managed as hazardous waste. However, evaporation has to be taken into consideration and the concentration may be above 0.1%. Therefore my evaluation is that waste from used LesEndo agar should be categorized and managed as hazardous waste to protect humans and the environment from being harmed.

Key words: basic fuchsine, m-Endo agar LES, hazardous waste, categorizing waste

# Innehållsförteckning

<b>1 Inledning</b> .....	1
1.1 Syfte och frågeställningar.....	1
1.1.1 Avgränsning .....	1
<b>2 Bakgrund</b> .....	1
2.1 Användningen av LesEndo agar vid mikrobiologiska vattenanalyser.....	1
2.2 Basiskt fuksins funktion i LesEndo-substratet.....	2
2.3 Toxikologiska studier på basic red 9 i basiskt fuksin .....	2
2.4 Lagstiftning .....	3
2.4.1 CLP-förordningen, förordning (1272/2008/EG).....	3
2.4.2 Miljöbalken SFS(1998:808) och avfallsförordning SFS(2011:927).....	3
<b>3 Material och metod</b> .....	4
3.1 Undersökning av fuksinets värmebeständighet.....	4
3.2 Metod för klassificering av avfallet .....	5
<b>4 Resultat</b> .....	5
4.1 Laborativ undersökning .....	5
4.2 Klassificering av avfallet.....	6
4.2.1 Bedömning och motivering.....	6
4.2.2 Hur avfallet ska hanteras enligt lagstiftningen.....	7
<b>5 Diskussion</b> .....	7
5.1 Autoklavering av LesEndo-substrat .....	7
5.2 Faktorer som påverkar bedömningen av avfallet .....	8
5.3 Förslag på rutiner vid hanteringen av avfall från LesEndo-substrat .....	8
5.4 Problematik kring gällande lagstiftning och föreskrifter .....	9
5.5 Vidare undersökningar.....	10
5.6 Slutsatser .....	10
<b>6 Referenser</b> .....	11



# 1 Inledning

Varje dag ger olika verksamheter upphov till olika typer av avfall som måste hanteras och tas om hand på något sätt. Under 2012 producerades det i Sverige 27 miljoner ton avfall, vilket motsvarar 2,8 ton per person (Naturvårdsverket 2014a). Utvärderingar har visat att vi i Sverige blir allt bättre på att sortera och hantera avfallet på ett korrekt sätt, men den totala mängden avfall i samhället fortsätter att öka (Naturvårdsverket 2014a). I många fall ses avfall som en nyttig resurs, ur vilket vi kan framställa energi för att värma våra hus eller drivmedel till fordon. Avfall kan många gånger även innehålla farliga kemikalier och ämnen som om de sprids i miljön kan orsaka skada och olägenhet för människa och miljö. 1998 antog Sverige 16 nationella miljömål av vilket ett är att uppnå en god bebyggd miljö. Målet innebär bland annat att det avfall som uppstår i samhället ska hanteras på ett effektivt sätt och på ett sätt som gör att dess påverkan på människors hälsa och miljön förhindras (Naturvårdsverket 2012).

Stockholm vatten är ett kommunalt bolag vars uppgift är att förse Stockholms innevånare med dricksvatten. Bolaget äger två vattenverk, Norsborg och Lovö vattenverk (Stockholm Vatten 2014 a). Under hela produktionskedjan av dricksvatten och i driften av vattenverken uppstår olika typer av avfall. På vattenkvalitetsanalyslaboratorierna vid vattenverken uppstår det avfall från de mikrobiologiska analyser som görs på dricksvattnet. Det består bland annat av m-Endo agar LES (LesEndo) som används som tillväxsubstrat för mikroorganismer vid bestämning av *E. coli* och koliforma bakterier. LesEndo innehåller basiskt fuksin som bland annat innehåller basic red 9. Ämnet klassas som cancerframkallande och är därför hälsofarligt. Hittills har förbrukade plattor med LesEndo-substrat slängts tillsammans med övrigt avfall efter att plattorna torrdestruerats i 160 °C för att avdöda eventuella patogena mikroorganismer. Idag saknas det kunskap och tydliga rutiner för hur avfall från plattor med LesEndo-substrat ska hanteras. Avsikten med studien är att fylla de kunskapsluckor som finns angående avfallshanteringen av LesEndo-substrat. Arbetet är en del av Stockholm Vattens ständiga förbättringsarbete kring avfall som uppstår inom verksamheten.

## 1.1 Syfte och frågeställningar

Examensarbetets syfte är att klargöra hur avfall från förbrukade plattor med LesEndo-substrat bör klassificeras med tanke på dess innehåll av ett cancerogent ämne och hur avfallet sedan ska hanteras.

För att besvara syftet med examensarbetet ställs följande frågor:

- Förbrukade plattor upphettas till 160 °C för att avdöda mikroorganismer. Påverkas fuksinet av det?
- Hur bör avfallet klassificeras enligt gällande lagstiftning inom området?
- Hur bör avfallet hanteras utifrån klassificeringen?

### 1.1.1 Avgränsning

Studien har avgränsats till att undersöka hur avfall från använda plattor med LesEndo-substrat ska hanteras vid Stockholm Vattens vattenkvalitetsanalyslaboratorier på Norsborg och Lovö vattenverk.

# 2 Bakgrund

## 2.1 Användningen av LesEndo agar vid mikrobiologiska vattenanalyser

Vid framställningen av dricksvatten genomförs mikrobiologiska och kemiska analyser för att se till att livsmedlet uppfyller de gränsvärden som anges i Livsmedelsverkets föreskrifter

SLVFS (2001:30) om dricksvatten. Enligt direktiv (98/83/EG) om kvaliteten på dricksvatten ska förekomsten av koliforma bakterier och *E. coli* bestämmas genom den internationella standarden SS-EN ISO 9308-1. Standardmetoden innebär att undersökningen genomförs med membranfiltreringsmetod där laktos TTC Tergitolagar (LTTC) används som tillväxsubstrat (Šlapokas et al. 2012). I jämförelse med andra Europeiska länder är metoden problematisk att tillämpa i Sverige och i övriga Norden då det visat sig att det blir stor bakgrundstillväxt av andra mikroorganismer på odlingssubstratet. Bakgrundstillväxten beror på att vi i princip inte desinficerar vårt vatten vilket i sin tur gör det svårt att säkerställa ett korrekt analysvärde (Šlapokas et al. 2012). För att lösa problemet använder vi i Sverige istället den alternativa standardmetoden SS 028167 som motsvarar innebörden av den metod som anges i direktiv (98/83/EG). Den innebär att LesEndo används istället för LTTC som tillväxsubstrat.

## 2.2 Basiskt fuksins funktion i LesEndo-substratet

Basiskt fuksin är ett syntetiskt färgämne som hör till anilinfärgerna och är den beståndsdel som färgar LesEndo substratet rosa. Basiskt fuksin är i sig en sammansättning av fyra olika aromatiska aminer, basic red 9 (magenta 0), magenta 1, magenta 2 och magenta 3 (new fuchsine (Cooksey och Dronsfield 2009). Fuksinets funktion i LesEndo-substratet är att skilja kolonier av *E. coli* och koliforma bakterier från andra bakteriekolonier (De Bord, 1917, Levine, 1918). Koliforma bakterier karaktäriseras av en metallisk glans i gulgrönt, så kallad fuksinglans (figur 1). Glansen beror på att när *E. coli* och andra koliforma bakterier fermenterar laktosen i substratet bildas syra och acetaldehyd som bakterien avger till sin omgivning. Aldehyden reagerar sedan med fuksin som tillsammans med natriumsulfit bildar fuksin-sulfit i närvaro av syran (De Bord 1917, Rubina et al. 2006). LesEndo-substratets innehåll av fuksin gör det till ett selektivt tillväxsubstrat vilket innebär att kemikalien hämmar tillväxt av oönskade bakteriestammar men tillåter tillväxt av *E. coli* och koliformer (Rubina et al. 2006).



**Figur 1.** Koliforma bakterier karaktäriseras av koloniernas fuksinglans. Foto: Elin Agnemo

## 2.3 Toxikologiska studier på basic red 9 i basiskt fuksin

Det har länge varit känt att somliga aromatiska aminer kan orsaka cancer och att andra misstänks vara möjliga carcinogener. Metaboliter från aromatiska aminer med en  $\text{NH}_2^+$  grupp är särskilt reaktiva på grund av dess höga biotillgänglighet och har därför förmåga att reagera med DNA, RNA och proteiner (WHO 2010). Bara för ett fåtal aromatiska aminer har the International Agency for Research on Cancer (IARC) kunnat fastställa att de är cancerframkallande för människor. IARC har utifrån en sammanvägd utvärdering av de



tillförlitliga epidemiologiska studier som gjorts om ämnet bedömt att basic red 9 i basiskt fuksin är cancerframkallande för djur. Det innebär att det finns en ökad incidens för cancer även hos människor men att det inte kunnat fastställas helt utifrån de studier som gjorts. Dock har IARC konstaterat att tillverkning av magenta, som innehåller basiskt fuksin, är cancerframkallande för människor (WHO 2010). De äldsta studierna har visat att aromatiska aminer orsakar cancer i urinblåsan hos människor och andra däggdjur (Baan et al. 2008). Senare studier på gnagare har visat ett samband mellan basic red 9 och en ökad risk för levercancer, tumörbildning i binjurarna, benigna och maligna tumörer i huden och cellförändringar i sköldkörtelns folliklar vid oral administration. De djur som fått ämnet lokalt injicerat i huden har utvecklat sarkom i det hudområde som ämnet administrerats (WHO 2010).

## **2.4 Lagstiftning**

### **2.4.1 CLP-förordningen, förordning (1272/2008/EG)**

LesEndo substrat är en kemisk blandning och omfattas därför av förordning (1272/2008/EG) även kallad CLP-förordningen och kemikalieinspektionens föreskrifter (KIFS 2005:7) om klassificering och märkning. Dessa gäller parallellt fram till 1 juni 2015 då CLP-förordningen ersätter tidigare regelverk. Förordningens syfte är att reglera hur kemiska ämnen och blandningar ska klassificeras för att säkerställa att produkten märks på rätt sätt (Kemikalieinspektionen 2014). Rätt klassning av en kemisk produkt är en förutsättning för hur produkten ska hanteras som avfall i enlighet med förordning SFS (2011:927).

Märkningen av en kemisk produkt eller blandning har även betydelse för när den blir ett avfall. Ett avfall som innehåller ett farligt ämne i en mängd att det skulle kunna betraktas som en farlig kemisk produkt ska bedömas och klassas utifrån de gränser som anges i förordning 1272/2008/EG (Naturvårdsverket 2013). Basic red 9 i basiskt fuksin är klassad som cancerframkallande kategori 1B enligt förordningens bilaga 1 del 3. Klassificeringen innebär enligt förordning 1272/2008/EG att ämnet förmodas vara cancerframkallande på människa men att det inte går att fastställa helt. Det beror på att bedömningen främst baseras på djurstudier där resultaten visat ett starkt samband mellan exponering av ämnet och utveckling av cancer, men att det saknas tillförlitliga studier på människor.

### **2.4.2 Miljöbalken SFS (1998:808) och avfallsförordning SFS (2011:927)**

Miljöbalkens syfte är att främja en hållbar utveckling för att nuvarande och kommande generationer ska försäkras en hälsosam och god miljö. För att uppfylla lagstiftningens syfte ska den tillämpas så att människors hälsa och miljön skyddas mot skador och olägenheter, oavsett om det uppstått genom föroreningar eller annan påverkan. 2011 implementerades i svensk lagstiftning det avfallsdirektiv (2008/98/EG) som EU beslutade om 2008 (Naturvårdsverket 2014b). Av direktivet tillkom ett nytt kapitel 15 i miljöbalken om avfall och producentansvar samt en ny avfallsförordning SFS (2011:927). Vad som menas med avfall och hantering av avfall preciseras i balkens 15 kap. 1 § och 3§. Enligt definitionen är ett avfall varje föremål eller ämne som innehavaren avser att göra sig med. Hantering av avfall innebär insamling, transport, återvinning och bortskaffande av avfallet. Enligt de allmänna hänsynsreglerna i 2 kap. 2 § SFS (1998:808) ska alla som avser att bedriva en verksamhet skaffa sig den kunskap som behövs för att skydda människor och miljö från att olägenhet eller skada uppstår. Det innebär att verksamhetsutövaren, i det här fallet avfallsinnehavaren, enligt miljöbalkens 15 kap. 5a §, ska tillgodogöra sig kunskap om hur avfallet ska klassas för att det ska kunna hanteras på ett hälso- och miljömässigt godtagbart sätt.

Avfallsförordningen SFS (2011:927) ställer krav på hur avfall ska hanteras utifrån vilken typ av avfall det rör sig om. Den som gett upphov till avfallet är skyldig att avgöra vilket avfallslag det är för att kunna bedöma hur det ska klassas enligt avfallskoderna i förordningens bilaga 4. Generellt är avfall farligt avfall om det tillhör grupperna explosivt, brandfarligt, frätande, smittförande, eller giftigt för människa och miljö (Naturvårdsverket 2013). Därför kan det vid en första tolkning av hur ett avfall ska klassas se ut som att det ska

klassas som farligt avfall utifrån avfallskoden. För att göra en korrekt bedömning behöver den som ska klassa ett avfall ta hänsyn till fler faktorer än så. Av Naturvårdsverkets allmänna råd till avfallsförordningen (2011:1063) avseende farligt avfall NFS (2004:14) framgår att det bör beaktas att avfallet kan innehålla en lägre halt av farliga ämnen än de gränsvärden som anges i förordningens bilaga 1 vilket kan påverka utfallet av den slutliga klassningen.

Hantering av avfall berörs även av andra föreskrifter. En viktig föreskrift att ta hänsyn till vid hanteringen av farligt avfall är Arbetsmiljöverkets föreskrift AFS (2011:19) om kemiska arbetsmiljörisker. I dess 17 § står det att den som omhändertar avfall ska få de uppgifter som behövs om innehållet för en säker hantering. Det innebär att avfallets behållare märks med tydlig information om innehåll, farosymboler och med information om avfallets egenskaper. Tillsammans vävs de olika föreskrifterna samman med syfte att täcka så många aspekter av avfallshanteringen som möjligt för att skydda människor och miljö från olägenhet.

## 3 Material och metod

### 3.1 Undersökning av fuksinets värmebeständighet

För att bedöma om basiskt fuksin förändras av värme genomfördes en laborativ undersökning. Syftet med detta var att se om värme kan förstöra basiskt fuksin och på sätt göra avfallet "giftfritt".

Material som användes för undersökningen var bland annat:

- M-Endo agar LES för mikrobiologi, Merck Millipore produktnummer 111277
- Flaskor av borosilikatglas.
- Sterilt S-Pak filter 0,45µm, diameter 47mm, Merck Millipore produktnummer HVWPO47S6.
- Petriskålar med diameter 50mm.
- Livsmedelsverkets referensmaterial Dw 2013: A(II) med *E. coli* och koliforma bakterier för simulerat vattenprov.

Undersökningen genomfördes genom att bereda M-Endo agar LES för mikrobiologi enligt tillverkarens anvisning. Beredning av substrat gjordes i två omgångar och hälldes i flaska av borosilikatglas med skruvlock. I det ena fallet autoklaverades det i 121 °C i 15 min och i den andra omgången i 121 °C i 30 min. pH för det autoklaverade substratet kontrollerades och jämfördes med den autoklaverade kontrollen. Substratet fördelades om 5-6 ml/petriskål. Antal replikat för vardera tiden och temperatur var 10 stycken. Kontrollvärden beräknades utifrån de värden som laboratoriet vid Lovö vattenverk erhåller vid kontroll av livsmedelsverkets referensmaterial.

Membranfiltrering av simulerat vattenprov genomfördes enligt svensk standardmetod SS 028167. Beredning av simulerat vattenprov för membranfiltrering gjordes enligt Livsmedelsverkets instruktion för referensmaterial (RM) för dricksvattenmikrobiologi 2013-08-26 (Livsmedelsverket 2013). Varje filtrering gjordes med provvolymen 5ml. Preparerade agarplattor inkuberades i +35±0,5 °C i 22±2 h. Beräkning av kolonier som uppvisade fuksinglans gjordes genom okulär besiktning.

En jämförelse mellan replikatens medelvärden av fuksinglänsande kolonier och kontrollen beräknades med konfidensintervall för skillnaden mellan medelvärden i två populationer (C.I 95 %). Beräkningen gjordes med hjälp av formel enligt Körner och Wahlgren (2005). Beräkning av medelvärden och standardavvikelse gjordes i Excell. Bestämningen av mängden

basiskt fuksin i substratet gjordes utifrån uppgifter i innehållsförteckningen på förpackningen till LesEndo.

### 3.2 Metod för klassificering av avfallet

Klassificering av avfallet genomfördes enligt den trestegsmetod som beskrivs i Avfallsförordningen SFS (2011:927) bilaga 4. Bedömningen om hur avfallet vidare ska hanteras gjordes genom att studera lagstiftning inom området såsom miljöbalken (SFS 1998:808), Avfallsförordningen SFS (2011:927), och AFS (2011:19) om kemiska arbetsmiljörisker.

Klassificeringen av avfallet baseras delvis på litteraturstudier. För den här information inhämtats via myndigheters informationsmaterial och vetenskapliga artiklar som inhämtats via databaser som tillhandahålls av Umeå universitetsbibliotek. För dessa har dessa sökord använts: Basic fuchsin, basic red 9 and cancer, aromatic amines and cancer, the function of basic fuchsin in m-Endo agar LES, farligt avfall och klassificering av farligt avfall. Konsoliderade föreskrifter har inhämtats via lagrummet.se och Notisum.

## 4 Resultat

### 4.1 Laborativ undersökning

Av tabell 1 framgår att samtliga replikat i kontrollen, 15 min och 30 min uppvisar kolonier med fuksingläns. Observationen visar att basiskt fuksin finns i samtliga replikat för kontroll, 15 min och 30 min.

**Tabell 1.** Tillväxt av kolonier som uppvisar fuksingläns på LesEndo-substrat som har autoklaverats vid 0 min, 15 min och 30 min.

Tid i autoklav (min) 121 °C	Fuksinglänsande kolonier (cfu/5 ml) <sup>1</sup> . Medelvärde ± SD	Antal plattor med glänsande kolonier.	Antal replikat.	pH
Kontroll (0)	53 ±7	10	10	7,27
(15)	49 ±8	10	10	7,08
(30)	51 ±9	10	10	7,10

Med beräkning av konfidensintervall för skillnaden mellan medelvärden av fuksinglänsande kolonier (cfu/5ml) för replikat 15 min och 30 min undersöktes i jämförelse med kontrollen. Beräkning av medelvärden av fuksinglänsande kolonier för kontroll och 15 min (tabell 1) gav med konfidensgraden 95 %, intervallet  $(-3 < \mu_1 - \mu_2 < 11)$ . Värdet 0 ligger inom intervallet vilket innebär att det inte finns någon signifikant skillnad mellan medelvärdet för fuksinglänsande kolonier i kontrollen och replikat 15 min. Samma jämförelse mellan kontroll och replikat 30 min (tabell 1) ger med konfidensgraden 95 %, intervallet  $(-5 < \mu_1 - \mu_2 < 9)$ . Värdet 0 ligger inom intervallet vilket även här innebär att det inte finns någon signifikant skillnad mellan medelvärden för fuksinglänsande kolonier i kontroll och replikat 30 min.

pH-värdet för LesEndo-substrat bör ligga inom  $7,2 \pm 0,1$ . De pH-värden som anges i tabell 1 ligger inom intervallet.

<sup>1</sup> cfu= colony forming unit/5ml

## 4.2 Klassificering av avfallet

Använda plattor med LesEndo-substrat är avfall som härrör från laboratorium. Föreskrifter, avfallsskod och underlag för klassning och slutlig bedömning redovisas i tabell 2. Avfallet innehåller basiskt fuksin, som i sig innehåller basic red 9, som hör till kategorin cancerframkallande 1B enligt 1272/2008/EG.

Avfall med ämneskod märkt med (\*) klassas som farligt med hänvisning till avfallets innehåll av "farliga ämnen". Av tabell 2 framgår att avfallet innehåller ett ämne som uppfyller ämneskod H7 Cancerframkallande med lydelsen "Avfallet innehåller ett ämne eller preparat som vid inandning, förtäring eller upptag genom huden kan ge upphov till cancer eller öka dess förekomst". En sådan produkt anses vara farlig när det cancerframkallande ämnet överstiger eller är lika med 0,1 viktsprocent. Av innehållsförteckningen för LesEndo framgår det att den innehåller 0,8g basiskt fuksin per 1000ml substrat. Det utgör 0,08 % av den totala volymen substrat. Basiskt fuksin utgör därmed också 0,08 % av den totala vikten substrat.

**Tabell 2.** Anger de föreskrifter som tillämpas vid avfallsklassning av LesEndo-substrat och utfallet av lagstiftningens tolkning

Föreskrift	Avfallsslag/kategori	Klassificering
<b>Avfallsförordning (SFS 2011:927) bilaga 4.</b>	16 05 06*	Farligt avfall
<b>Avfallsförordning (SFS 2011:927) bilaga 1. i enlighet med 1272/2008/EG.</b>  H7/cancerframkallande eller öka dess förekomst.	Kategori 1B	Farligt avfall
<b>Avfallsförordning (SFS 2011:927) bilaga 1.</b>  Punkt 9. Ämne som är känt för att vara cancerframkallande (kategori 1 eller 2) vid en koncentration större än eller lika med 0,1 %.	Kategori 1B  Basiskt fuksin utgör 0,08 % av avfallets vikt.	Ej farligt avfall

### 4.2.1 Bedömning och motivering

Använda plattor och annat överblivet Les Endo-substrat bör sorteras som farligt avfall. Skäl till bedömning: Vid beredning, förvaring och användning avdunstar vatten från substratet. Därför går det inte att förutsätta att den faktiska koncentrationen av basiskt fuksin i använda plattor ligger under gränsvärdet 0,1 viktsprocent.

Bedömningen motiveras med stöd av:

- 2 kap. 1 § miljöbalken SFS (1998:808). Avfallet klassas som farligt avfall då det inte bevisats att avdunstning inte påverkat substratet i den omfattningen att koncentrationen inte överstiger gränsvärdet.
- Avfallsförordningen SFS (2011:927) 16 §. Avfall som betraktas som farligt får inte blandas ut med annat avfall eller spädas ut. Avfall som utgörs av LesEndo-substrat får inte spädas ut för att säkerställa att det ligger under gränsvärdet för farligt avfall.
- 2 kap. 3 § miljöbalken SFS (1998:808). Verksamhetsutövaren ska vidta de försiktighetsåtgärder som krävs för att förebygga att basiskt fuksin sprids till miljön. Avfallet kan utgöra en olägenhet för människor och miljö och därför ska avfallet klassas och behandlas som farligt avfall.

#### **4.2.2 Hur avfallet ska hanteras enligt lagstiftningen**

Bedömningen innebär att förbrukade plattor med LesEndo-substrat inte får blandas med annat avfall eller annat farligt avfall, eller spädas ut enligt 16 § avfallsförordningen SFS (2011:927). Avfallet ska därför separeras från övrigt avfall. Laboratoriepersonalen måste också skriftligt dokumentera hur mycket avfall som uppstår av LesEndo-substratet per år. Anteckningarna ska också innehålla uppgifter om till vem avfallet lämnas för vidare hantering. Dokumenten som förs i kronologisk ordning ska sparas i tre år enligt 55 § SFS (2011:927). Dokumentationen krävs för att möjliggöra för den som hämtar avfallet att få den information som är nödvändig för att denne ska kunna uppfylla de krav som ställs på denne i lagstiftningen. Anteckningarna ska också kunna redovisas för tillsynsmyndigheten om den begär det.

Förordning SFS (2011:927) 60 § säger att när avfallet ska transporteras bort från verksamheten ska det säkerställas från båda parter, lämnaren och hämtaren, att det finns ett transportdokument. Avfallslämnaren är skyldig att kontrollera att hämtaren har det tillstånd som krävs för att transportera avfallsslaget enligt förordningens 55 §. Utifrån arbetsmiljöverkets föreskrifter (AFS 2011:19) om kemiska arbetsmiljörisker 17 § ska den behållare som avfallet läggs i för borttransport märkas med tydlig information om innehåll, farosymboler och med information om avfallets egenskaper.

## **5 Diskussion**

### **5.1 Autoklivering av LesEndo-substrat**

Av de laborativa försöken framgår det att basiskt fuksin finns i samtliga replikat eftersom det uppstod fuksinglänsande kolonier på alla plattor. Att autoklivera substratet i 121 °C i 15 eller 30 min är inte tillräckligt för att påverka ämnet på något sätt. Det kan förklaras av att basic red 9 som finns i basiskt fuksin inte ändrar form eller förstörs förrän vid 263 °C (National Toxicology Program 2014). En av rutinerna på laboratoriet är att hetta upp förbrukat material med LesEndo-substrat till 160 °C för att genom torrdestruering avdöda eventuella patogena mikroorganismer. Vid torrdestruering läggs avfallet i ett värmeskåp som fungerar som en ugn. Den metod som användes för att bestämma om basiskt fuksin förändras av uppvärmning stämde inte överens med den temperaturen eftersom autoklaven på labb inte kan bli varmare än 121 °C. Att autoklivera substratet var det enda alternativet för den här undersökningen. Ett test gjordes för att se om torrsubstansen som substratet tillverkas av kunde hettas upp i torrdestrueringsugnen. Dessvärre misslyckades det då pulvret smälte samman och gick inte att använda. Studien kan därför inte helt säkerställa att basiskt fuksin inte förändrats vid 160 °C. Av den information om ämnets fysikaliska egenskaper verkar det ändå rimligt att anta att det inte har förändrats då det enligt National Toxicology program (2014) inte förstörs förrän vid 263 °C. Att det inte gick att utföra studien med samma förutsättningar som de som förekommer i "verkligheten", öppnar upp för funderingar kring om det hade funnits ett bättre sätt att ta reda på om basiskt fuksin fanns i substratet efter upphettning? Eftersom basiskt fuksin är ett färgämne hade det möjligen gått att spektrofotometriskt mäta dess sönderfallsprodukter och på så sätt dragit slutsatser om färgens värmebeständighet. Då basiskt fuksin oxideras av UV-ljus (Kosanič och Tričović 2001) hade det även varit intressant att genomföra en studie med syfte att undersöka om basiskt fuksin kan elimineras redan på labb. På så sätt hade avfallet från LesEndo-substrat inte hanterats som farligt avfall. Autokliveringen har inte heller påverkat tillväxten av koliforma bakterier. Att autokliveringen av substratet inte gjort någon skillnad syns även vid kontroll och jämförelse av pH-värden. Att pH-värdet i replikaten 15 och 30 min sjunkit något gentemot kontrollen kan bero på att näringsämnen i substratet förstörts av värmen.

## 5.2 Faktorer som påverkar bedömningen av avfallet

Eftersom det inte går att utesluta att koncentrationen av basiskt fuksin understiger gränsvärdet ska avfallet bedömas som farligt avfall om det uppvisar egenskaper att det skulle betraktas som en farlig kemisk produkt enligt förordning 1272/2008/EG (Naturvårdsverket 2013). Detta innebär att avfallet ska antas ha samma egenskaper som det farliga ämnet och tillhöra gruppen cancerframkallande kategori 1B i CLP-förordningens (1272/2008/EG) bilaga 1 del 3.

Försiktighetsprincipen, vars innebörd framgår av 2 kap 3 § SFS (1998:808), är viktig vid beaktande av miljöbalkens syfte om att kommande generationer ska säkerställas en god miljö utan att det föreligger risk för att olägenhet för människor och på miljö uppstår. Försiktighetsprincipen är även tillämplig vid motiveringen av avfallets klassning utifrån de vetenskapliga studier som gjorts på aromatiska aminer. Till detta hör IARC's betänkande om den teoretiska möjligheten att aromatiska aminer generellt kan vara potentiella carcinogener för människor (WHO 2010). Därför kan vi inte utesluta att risken är högre att basiskt fuksin är mer cancerogen för människor än vad studier hittills visat. Med tanke på aromatiska aminers risk att orsaka cancer eller öka dess förekomst är det viktigt att förebygga att mängden av dem ökar i miljön. Att skilja avfall som innehåller dem från övrigt avfall är ett sätt att minska risken att de sprids.

Föreskrifterna som beslutet i detta examensarbete grundar sig på anger minsta möjliga krav som samhället ställer för att undvika att olägenhet för människor och miljön uppstår. En verksamhetsutövare kan naturligtvis sätta högre uppsatta miljömål och krav på sin verksamhet än vad lagen säger. Den miljö- och kvalitetspolicy som Stockholm Vatten arbetar efter har som mål att driva ett ständigt förbättringsarbete, arbeta förebyggande och alltid vara minst lika bra som lagen kräver (Stockholm Vatten 2014b). I Stockholms Stad finns ett mål om att mängden felsorterat avfall ska minska och att stadens egna verksamheter ska ha kontroll över vilket avfall som uppstår och vilka mängder det är. Verksamheterna ska dessutom se till att hanteringen av avfallet med borttransport och omhändertagande sker på ett godtagbart sätt (Stockholms Stad 2012). Utifrån det visade resultatet att basiskt fuksin finns kvar i LesEndo-substratet är det möjligen en tillräcklig anledning för verksamheten att hantera avfallet som farligt i syfte att uppfylla sina egna miljö- och kvalitetsmål. Genom att vidta de åtgärder som rekommenderas i denna studie kommer Stockholm Vatten aktivt bedriva förebyggande arbete för en hållbar utveckling i enlighet med Stockholm stads miljöprogram 2012-2015.

Den slutliga bedömningen av avfallet beror på en sammanvägning av olika faktorer, där en del består av faktisk information om basiskt fuksin och en annan del utgörs av tolkning av lagstiftning. Det innebär att utfallet av bedömningen kan se olika ut eftersom olika personer kan göra olika tolkningar av lagstiftningen. Om avfallet skulle klassas på ett annat sätt av en annan person så är det bra att Stockholm Vatten ändå hanterar avfallet som farligt avfall då det driver det interna miljöarbetet framåt och kan inspirera andra aktörer inom samma område att göra detsamma.

## 5.3 Förslag på rutiner vid hanteringen av avfall från LesEndo-substrat

Av resultatet framgår det att hanteringen av avfallet styrs av olika lagstöd. För att kunna uppfylla kraven som ställs behövs det tydliga rutiner för hur det ska göras. Här följer några enkla förslag som ska ses som stöd för att genomföra det fortsatta arbetet med avfallshanteringen av LesEndo-substrat:

- Först och främst behöver det farliga avfallet skiljas från övrigt avfall. Det sker enklast genom att det läggs i en egen behållare på labb. Det är viktigt att tänka på att det substratprov som tas ut för att kontrollera pH-värdet kasseras på samma sätt.

- Den skriftliga dokumentationen görs lämpligen inom ramen för hur dokument inom egenkontrollprogrammet utformas. Dokumentationen om hur stor mängd avfall som uppstår anges i kilogram(kg)/år. Dokumenten sparas i tre år elektroniskt eller som papperskopia. Det här är en viktig del av hanteringen av avfall eftersom det handlar om att det är en del av insamlingen av avfall.
- När avfallet lämnas över till en annan part för borttransport ska det finnas ett transportdokument. Dokumentet kan vara elektroniskt. Det ska undertecknas av avfallslämnaren. Dokumentet ska innehålla information om följande:
  1. Avfallslag, alltså den information som ges av avfallskoden och information om vilka farliga ämnen avfallet innehåller (Naturvårdsverket 2003).
  2. Avfallsmängd. Information om vem som lämnar ifrån sig avfallet.
  3. Information om vem som är mottagare av avfallet.
- Behållaren som avfallet förvaras i ska märkas med den information som följer av den ursprungliga kemikaliens märkning enligt CLP-förordningen (1272/2008/EG) bilaga 1 del 3.

#### **5.4 Problematik kring gällande lagstiftning och föreskrifter**

För att lagstiftningen inom avfallsområdet ska harmoniseras inom den Europeiska Unionen implementeras EU-direktiv i nationell lagstiftning och EU-förordningar gäller som direkt lag. Avfallsdirektivet (2008/98/EG) resulterade i en uppdatering av miljöbalkens kap. 15 och avfallsförordningen SFS (2011:927). Till de olika förordningarna hör ett antal föreskrifter och allmänna råd som den nationellt ansvariga myndigheten står för. För avfall och klassning av farligt avfall är det Naturvårdsverket som är ansvarig myndighet. Möjligen beror det på att myndigheten har för lite resurser men min åsikt är att det material myndigheten har inom området är uppdaterat. Naturvårdsverkets allmänna råd, handledning och vägledningar bygger i stort på den äldre versionen av avfallsförordningen SFS (2001:1063). Även om många lydelse är samma i den gamla och nya förordningen bör materialet uppdateras. Dessutom borde handledningar undersöka om praxis förändrats i och med tillkomsten av den nya förordningen. Vägledningar som hör till en gammal förordning där hänvisning till kapitel och bilagor inte stämmer med den aktuella förordningen skapar förvirring och osäkerhet både för den som ska klassa ett avfall och för tillsynsmyndigheter. En annan anledning till att materialet bör uppdateras är att CLP-förordningen (1272/2008/EG) träder i full kraft under 2015 och därmed kommer äldre termer för skyddsangivelser inte vara aktuella längre.

Svaret på hur ett avfall ska klassas på ett korrekt sätt finns inte samlat i bara en förordning utan det är många aspekter som väger in för bedömningen. Som systemet är upplagt idag för identifiering av avfallslag kan det vara komplicerat för avfallsinnehavaren att avgöra om avfallet är farligt eller ej. Det röriga systemet öppnar upp för olika sätt att lösa problemet med ett uppkommet avfall som inte är helt självklart hur det ska klassas. Vill avfallsinnehavaren vara på säkra sidan behandlar denne ett avfall som farligt avfall, beroende på om ursprungsprodukten är märkt med faroangivelser enligt CLP-förordningen. Systemet med att avfall som innehåller ett farligt ämne, men under angivna gränsvärden, inte behöver betraktas som farligt avfall öppnar i sin tur upp för utspädningsproblematik. Här hjälper åtminstone den nya lydelsen i avfallsförordningen SFS (2011:927) till som säger att "Avfall får inte spädas ut" medan den gamla lydelsen i SFS (2001:1063) var "Avfall bör inte spädas ut". Troligtvis ser praxis ut på ett annat sätt eftersom lydelsen inte ändrats till den strängare i Naturvårdsverkets allmänna råd NSF (2004:14).

För det här examensarbetet saknas information om hur mycket vätska som avdunstar från substratet vid beredning, användning och vid destruering av mikroorganismer på använda plattor. Det behövs för att få en mer exakt uppskattning av hur stor viktprocent som utgörs av basiskt fuksin. Det är möjligt att sådan information skulle ge en tydligare bedömning av

avfallet. Däremot är det inte helt enkelt att mäta genom att endast väga substratet före och efter användning eftersom substratet i princip ”späds ut” redan under användningen. Till substratets enskilda mängd tillkommer plast från petriskålarna, filter och själva massan av bakterierna. Det är problematiskt vid tolkningen av lagstiftningen eftersom den säger att farligt avfall ska skiljas från övrigt avfall. Om lagen tolkas bokstavstroget innebär det att substratet borde skiljas från petriskålar och filter. Det är ohållbart och därför har jag i min bedömning inte räknat med den vikt som det övriga materialet utgör i avfallet för att undvika att låtsas att det farliga ämnet är mindre farligt bara för att det är upplandat med annat material. Frågan kring utspädning av farligt avfall är till syvende och sist en samvetsfråga och upp till var och en att avgöra vad som är rimligt utifrån de förutsättningar som finns.

## **5.5 Vidare undersökningar**

Studien har endast undersökt hur avfall av använda plattor med LesEndo-substrat ska hanteras utifrån sitt innehåll av ett cancerframkallande ämne. För en fullständig bedömning om hur avfallet ska hanteras bör det fastställas till vilken riskklass det mikrobiologiska agens, som växer på substratet, tillhör. Det är av särskild vikt eftersom den som avfallet lämnas till ska få all nödvändig information för att kunna vidta de åtgärder som behövs för att avfallet ska hanteras på rätt sätt. Idag finns en önskan hos personalen om att slippa autoklavera använda plattor för att avdöda mikroorganismer då det ger upphov till illaluktande ångor, som i sig är ett arbetsmiljöproblem. En riskklassning av mikroorganismerna behövs även för att avgöra om de kasserade odlingsplattorna behöver autoklaveras för att avdöda mikroorganismerna enligt arbetsmiljöverkets föreskrifter AFS (2005:01) om mikrobiologiska arbetsmiljörisker, smitta, toxinpåverkan, överkänslighet.

## **5.6 Slutsatser**

Erfarenheter av studien var följande:

- Basiskt fuksin i Les Endo-substrat påverkas inte av vare sig den temperatur (121 °C) eller tid som substratet autoklaverades vid. Det innebär att det är mycket troligt att basiskt fuksin finns i avfallet från använda plattor med LesEndo.
- På grund av innehållet av basiskt fuksin i avfallet från använda plattor med LesEndo-substrat klassas det som farligt avfall enligt förordning SFS (2011:927).
- Koncentrationen av basiskt fuksin i LesEndo-substratet ligger under det gränsvärde som anges i förordning (1272/2008/EG) och ska då inte klassas som farligt avfall i lagstiftningens mening. Min bedömning är däremot att vid beredning, förvaring och användning avdunstar antagligen vatten från substratet. Detta påverkar koncentrationen av basiskt fuksin i LesEndo-substratet. Därför ska avfallet ändå klassas som och hanteras som farligt avfall enligt avfallsförordningen SFS (2011:927).



## 6 Referenser

- AFS 2005:01. *Arbetsmiljöverkets föreskrifter om mikrobiologiska arbetsmiljörisker, smitta, toxinpåverkan och överkänslighet*. Stockholm: Arbetsmiljöverket
- AFS 2011:19. *Arbetsmiljöverkets föreskrifter om kemiska arbetsmiljörisker*. Stockholm: Arbetsmiljöverket
- Baan, R., Straif, K., Grosse, Y., Secretan, B., El-Ghasssi, F., Bouvard, V., Benbrahim, L. och Coglianò, V. 2008. Carcinogenicity of some aromatic amines, organic dyes and related exposures. *The Lancet Oncology* 9(4):322-323
- Cooksey, C. och Dronsfield, A. 2009. Fuchsin or magenta: the second most famous aniline dye. A short memoir on the 150<sup>th</sup> anniversary of the first commercial production of this well known dye. *Biotechnic & Histochemistry* 84(4): 179-183
- De Bord, G G. 1917. The fuchsin-aldehyde reaction on the Endo medium. *Journal of bacteriology* 2(3): 309-314
- Europaparlamentet och rådets förordning nr 1272/2008. *Förordning om klassificering, märkning och förpackning av ämnen och blandningar*.
- Europeiska unionen. *Rådets direktiv nr 98/83 om kvaliteten på dricksvatten*.
- Kemikalieinspektionen. 2014. Kort om CLP. <http://www.kemi.se/sv/Innehall/Lagar-och-andra-regler/Klassificering-markning-och-sakerhetsdatablad/Kort-om-CLP/> (hämtad 2014-10-23).
- Kosanić, M. och Tričović, J S. 2001. Degradation of pararosaniline dye photoassisted by visible light. *Journal of Photochemistry and photobiology* 149:247-251
- Körner, S. och Wahlgren, L. 2005. *Statistiska metoder*. 2.uppl. Sverige :Studentlitteratur.
- Levine, M. 1918. A simplified fuchsin sulphithe (Endo) agar. *American Journal of Public Health* 8(11):864-865
- Livsmedelsverket. 2013. *Livsmedelsverkets instruktion för referensmaterial (RM) för dricksvattenmikrobiologi*. Uppsala: Livsmedelsverket.
- National Toxicology Program. 2014. *13th Report on carcinogens*. U.S Department of health and Human Services.
- Naturvårdsverket. 2003. *Farligt avfall- Handbok enligt avfallsförordningen(SFS 2001:1063)*. Handbok 2003:8. Stockholm: Naturvårdsverket.
- Naturvårdsverket. 2012. *De svenska miljömålen. En introduktion*. Stockholm: Naturvårdsverket.
- Naturvårdsverket. 2013. *Klassning av farligt avfall- detta är farligt avfall*. Stockholm: Naturvårdsverket.
- Naturvårdsverket. 2014a. *Avfall i Sverige 2012*. Rapport 6619. Stockholm: Naturvårdsverket.
- Naturvårdsverket. 2014b. Lagar och regler om avfall. <http://www.naturvardsverket.se/Stod-i-miljoarbetet/Vagledningar/Avfall/Lagar-och-regler-om-avfall/> (hämtad 2014-10-23)
- NFS 2004:14. *Naturvårdsverkets allmänna råd till avfallsförordningen(2001:1063) avseende farligt avfall*. Stockholm: Naturvårdsverket.
- Rubina, A., Shafqat, F. och Sayyed, S A. 2006. Manipulation of different media and methods for cost-effective characterization of Escherichia coli strains collected from different habitats. *Pakistan Journal of Botany* 38(3):779-789
- SFS 1998:808. *Miljöbalken*. Stockholm: Miljödepartementet.
- SFS 2001:1063. *Avfallsförordning*. Stockholm: Miljödepartementet.
- SFS 2011:927. *Avfallsförordning*. Stockholm: Miljödepartementet.
- Šlapokas, T., Pitkänen, T. och Niemelä, S I. 2012. *Enumeration methods for coliform bacteria and Escherichia coli in regulatory drinking water quality monitoring in Sweden and Finland. Comparison between the national standard methods and the European reference method EN ISO 9308-1*. Uppsala: Livsmedelsverket.
- SLVFS 2001:30. *Livsmedelsverkets föreskrifter om dricksvatten*. Uppsala: Livsmedelsverket.
- Stockholms Stad. 2012. *Stockholms miljöprogram 2012-2015*. Stockholm: Stockholms Stad.
- Stockholm Vatten. 2014a. Vattenverk. <http://www.stockholmvatten.se/Vattnetsvag/Dricksvatten/Vattenverk/> (hämtad 2014-10-22)
- Stockholm Vatten. 2014b. Miljö och kvalitetspolicy. <http://www.stockholmvatten.se/Om-oss/Miljo--och-kvalitetspolicy/> (hämtad 2014-10-22)

WHO. 2010. *IARC monographs on the evaluation of Carcinogenic risks to humans. Some aromatic amines, organic dyes and related exposures*. Volume 99. Lyon: the International Agency for Research on Cancer.





Institutionen för ekologi, miljö och geovetenskap (EMG)  
901 87 Umeå, Sweden  
Telefon 090-786 50 00  
Texttelefon 090-786 59 00  
[www.umu.se](http://www.umu.se)