

Overvåking av Bøkfjorden
2011 og giftighetstesting av
gruvekjemikaliene Magnafloc
LT 38 og Magnafloc 10



Hovedkontor

Gaustadalléen 21
0349 Oslo
Telefon (47) 22 18 51 00
Telefax (47) 22 18 52 00
Internett: www.niva.no

Sørlandsavdelingen

Jon Lilletuns vei 3
4879 Grimstad
Telefon (47) 22 18 51 00
Telefax (47) 37 04 45 13

Østlandsavdelingen

Sandvikaveien 59
2312 Ottestad
Telefon (47) 22 18 51 00
Telefax (47) 62 57 66 53

Vestlandsavdelingen

Thormøhlensgate 53 D
5006 Bergen
Telefon (47) 22 18 51 00
Telefax (47) 55 31 22 14

NIVA Midt-Norge

Pirsenteret, Havnegata 9
Postboks 1266
7462 Trondheim
Telefon (47) 22 18 51 00
Telefax (47) 73 54 63 87

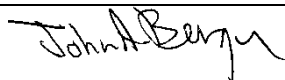
Tittel Overvåking av Bøkfjorden 2011 og giftighetstesting av gruvekjemikalierne Magnafloc LT 38 og Magnafloc 10	Løpenr. (for bestilling) 6310-2012	Dato 29/3-2012
	Prosjektnr. Undernr. O-11317	Sider Pris 121
Forfatter(e) Berge, John Arthur Beylich, Bjørnar Brooks, Steve Jaccard, Pierre, Francois Tobiesen, August Øxnevad, Sigurd	Fagområde Miljøgifter i marint miljø	Distribusjon Fri
	Geografisk område Finnmark	Trykket NIVA

Oppdragsgiver(e) Sydvaranger Gruve AS	Oppdragsreferanse
--	-------------------

Sammendrag

Sydvaranger Gruve AS (SVG) har tillatelse til å deponere inntil 4 millioner tonn med avgangsmasse i Bøkfjorden. I denne rapporten presenteres resultater fra undersøkelser i Bøkfjorden (turbiditetsmålinger, sedimentprofilografering og biomarkøranalyser i utsatte skjell) og giftighetstester relatert til utslipp av prosesskjemikalier (Magnafloc LT38 som inneholder polyDADMAC og Magnafloc 10 som inneholder polyakrylamid). Undersøkelsene viser at overflatevannet (ned til minst 20 m) i hele fjordsystemet er upåvirket av partikler fra utslippene til SVG. De dypere deler av området fra Kirkenes og ut til Reinøya er klart påvirket av avgang med negative konsekvenser for bunnfauna. Utenfor Reinøya observeres et vannvolum ved bunnen med en tykkelse på minst 50 m som er svakt partikkelpåvirket (<1 FTU), men uten at dette har hatt konsekvenser for bunnfaunaen. Biomarkørundersøkelsene indikerer at helsetilstanden til skjellene samlet sett var noe svekket på to stasjoner henholdsvis 0,6 og 3 km fra utslippet. Basert på responsen av enkeltbiomarkører anses likevel den biologiske effekten å være liten. Biomarkøranalysene er forenlige med at hovedinfluensområdet for utslippene fra SVG er området fra Kirkenes og ut til Reinøy (ca. 6 km fra utslippspunktet). Forsøk med virkelig avgang tyder på at det under normale driftsforhold ikke vil opptre akutt-toksiske effekter i utslippets nærområde. De testene som har subletale endepunkt (Skeletonema-testen, og fjæremark-testen) tyder heller ikke på at Magnafloc 10 (polyakrylamid) og Magnafloc LT38 (polyDADMAC) gir miljøeffekter ved slike betingelser. To Skeletonema-tester med tilsetning av Magnafloc LT38 som rensustans i sjøvann ga en EC50 på henholdsvis 1,9 mg/l og 1,0 mg/l.

Fire norske emneord	Fire engelske emneord
1. Gruveavgang	1. Tailings
2. Partikkelspredning	2. Particle dispersal
3. Miljøeffekter	3. Environmental effect
4. Marint miljø	4. Marine environment



John Arthur Berge
Prosjektleder



Morten Schaanning
Forskningsleder



Kristoffer Næs
Forskningsdirektør

**Overvåking av Bøkfjorden 2011 og giftighetstesting
av gruvekjemikaliene Magnafloc LT 38 og
Magnafloc 10**

Forord

Sydvaranger Gruve AS (SVG) startet i 2009 opp produksjon av høyverdig jernmalmkonsentrat, etter at virksomheten hadde vært stoppet siden 1997. Bedriften fikk i 2010 gjennomført en forundersøkelse for et miljøovervåkingsprogram i Bøkfjorden (Berge et al 2011) for å dokumentere eventuelle miljøeffekter av utslippene til sjø. Bedriften ønsket å videreføre miljøundersøkelsene i 2011, blant annet for å skaffe til veie oppdatert informasjon om miljøforholdene ifm. søknad om ny utslippstillatelse. NIVA utformet derfor et tilbud for slike undersøkelser og endelig tilbud ble oversendt i juni 2011. Prosjekttilbudet ble utformet etter samtale med Christian Rostock og Nicole Lambert ved Bergfald Miljørådgivere som er engasjert av SVG.

Tilbudet omfattet turbiditetsmålinger i Bøkfjorden, undersøkelser av forholdene på bunnen ved sedimentprofilfotografering (SPI), burforsøk med blåskjell (biomarkørundersøkelser) og testing av eventuell giftighet av sediment og gruveavgang med ulike konsentrasjoner av to gruvekjemikalier.

Tilbudet ble akseptert av SVG og endelig kontrakt mellom SVG og NIVA ble signert 2. august 2011. I forbindelse med planlegging og gjennomføringen av prosjektet har Bergfald Miljørådgivere vært NIVAs hovedkontakt.

Feltarbeidet ifm. turbiditetsmålinger og SPI-undersøkelser ble gjennomført i perioden 19.-22. september 2011. Under dette feltarbeidet deltok John Arthur Berge og Bjørnar Beylich. Til dette feltarbeidet var sjarken "Ina Marita" innleid av SVG med Bjørn Bye som båtfører.

Forsøkene med utplassering av blåskjell startet 14. september og ble avsluttet 23.-24. oktober 2011. Under arbeidet deltok Steven Brooks og Christopher Harman. Ved utsetting av skjellene fikk NIVA assistanse av Dykknor AS. Til opptak av skjellene ble sjarken "Ina Marita" innleid med Bjørn Bye som båtfører.

I forbindelse med de ulike deloppgaver har følgende personer på NIVA medvirket:

Turbiditetsmålinger i Bøkfjorden:	Pierre Franqois Jaccard, John Arthur Berge
Sedimentprofilfotografering:	Bjørnar Beylich, John Arthur Berge
Burforsøk med blåskjell:	Steven Brooks, Christopher Harman, Kenneth Macrae, Eivind Farnen, Karina Petersen, Maria Thérèse Hultman
Tokstester (alger, krepsdyr, fisk):	August Tobiesen
Tokstester (fjæremark):	Sigurd Øxnevad, Joachim Tørum Johansen

Ved NIVA har John Arthur Berge hatt prosjektlederansvaret og har også sammenstilt bidragene fra delundersøkelsene.

Kari Hermansen har vært lokal kontaktperson hos SVG. Kari Hermansen foretok også observasjoner av tilstanden til innsamlede blåskjell i forbindelse med «Stress on Stress»-undersøkelsene (se kapittel 9.2.2). På vegne av SVG har Nicole Lambert ved Bergfald Miljørådgivere vært oppdragsgivers representant.

Oslo, 29. mars 2012

John Arthur Berge

Innhold

Sammendrag	7
Summary	11
1. Innledning	14
1.1 Bakgrunn	14
1.2 Andre påvirkningsfaktorer i fjorden	17
1.2.1 Forurenset sediment utenfor Kimek AS	17
1.2.2 Kommunalt utslipp	18
1.2.3 Lakseslakteri	18
1.2.4 Kongekrabbe	18
1.3 Utgangspunkt for dosering i de gjennomførte giftighetstester	19
2. Hydrografi og spredning av partikler kartlagt ved turbiditetsmålinger	21
2.1 Metode	22
2.1.1 Feltarbeid/målestasjonene	23
2.1 Resultater	25
2.1.1 Hydrografi	25
2.1.2 Turbiditet	29
2.2 Konklusjoner	35
3. Sedimentprofilfotografering (SPI)	36
3.1 Metode	36
3.1.1 Feltarbeid/stasjoner	37
3.2 Resultater	38
3.2.1 Historisk utvikling	40
3.1 Konklusjoner	42
4. Vekstinhiberingstest med algen <i>Skeletonema costatum</i>	44
4.1 Testoppsett	44
4.2 Resultater	46
4.2.1 Test med Magnafloc LT38 direkte i testmedium	48
4.2.2 Vurdering av utlekking til vannfasen av Magnafloc LT38 fra gruveavgang behandlet med Magnafloc LT38	48
4.3 Konklusjon for algetester	50
5. Akutt giftighetstest med krepsdyret <i>Acartia tonsa</i>	51
5.1 Testoppsett	51
5.2 Resultater	51
5.3 Konklusjon for testing med <i>Acartia tonsa</i>	52
6. Akutt giftighetstest med strandkrabbe (<i>Carcinus maenas</i>)	53
6.1 Testoppsett	53
6.2 Resultater	53
6.3 Konklusjon for testing med krabber	54

7. Akutt giftighetstest med piggvar (<i>Scophthalmus maximus</i>)	55
7.1 Testoppsett	55
7.2 Resultater	55
7.3 Konklusjon	56
8. Giftighetstester med fjæremark (<i>Arenicola marina</i>)	57
8.1 Metode	57
8.1.1 Testorganisme	57
8.1.2 Testprinsipp, testbetingelser og adferdsparametere	58
8.2 Resultater	61
8.2.1 Nedgraving etter tilsetning	61
8.2.2 Aktivitet og fødeinntak	62
8.2.3 Dødelighet	65
8.3 Konklusjoner	65
9. Caged mussels in Bøkfjorden - Biological effects studies	66
9.1 Introduction	66
9.2 Background on the measured biomarkers	66
9.2.1 Condition Index	66
9.2.2 Stress on stress	66
9.2.3 Cellular energy allocation	67
9.2.4 LMS (NRRT)	67
9.2.5 Micronuclei formation	67
9.2.6 Basophilic cell volume	67
9.2.7 Neutral lipid accumulation	67
9.3 Methods	69
9.3.1 Collection of field mussels	69
9.3.2 Mussel cages	69
9.3.3 Tissue chemistry	71
9.4 Biomarkers	71
9.4.1 Condition index	71
9.4.2 Stress on stress	71
9.4.3 Cellular energy allocation	71
9.4.4 Lysosomal membrane stability	72
9.4.5 Micronuclei formation	72
9.4.6 Volume of basophilic cells	72
9.4.7 Neutral lipid accumulation	73
9.4.8 Integrated biological response index (IBR/n)	73
9.5 Statistical analysis	74
9.6 Results	75
9.6.1 Metal concentrations in mussel tissues	75
9.6.2 Condition index	75
9.6.3 Stress on Stress	76
9.6.4 Cellular Energy Allocation	77
9.6.5 Lysosomal membrane stability	77
9.6.6 Micronuclei formation	78
9.6.7 Volume of basophilic cells	79
9.6.8 Neutral lipid accumulation	79
9.6.9 Integrated biological response	80
9.7 Discussion	81
9.7.1 Chemical exposure	81
9.7.2 Biological response	81

9.7.3 Individual biomarker responses	81
9.7.4 Integrated biological response	83
9.7.5 Other potential sources of contaminant input into the fjord	83
9.8 Conclusions	84
10. Sammenfatning og konklusjoner	85
10.1 Feltundersøkelser	85
10.2 Giftighetstester	86
10.3 Influensområdet	87
11. Referanser	88
12. Vedlegg	92
12.1 Geografiske koordinater for stasjoner der det ble foretatt turbiditetsmålinger i 2011	92
12.2 HMS.datablad for Magnafloc 10	93
12.3 HMS datablad for Magnafloc LT38	99
12.4 Værdata fra Kirkenes lufthavn (kilde: Metrologisk inst.)	106
12.5 Bakgrunnsdata for vekstinhiveringstest med algen <i>Skeletonema costatum</i>	106
12.6 Bakgrunnsdata for test med <i>Acartia tonsa</i>	115
12.7 Bakgrunnsdata for test med strandkrabbe	117
12.8 Bakgrunnsdata for test med piggvar (oksygen, pH, temperatur mm.)	119

Sammendrag

Sydvaranger Gruve AS (SVG) startet i 2009 opp produksjon av høyverdig jernmalmkonsentrat etter at virksomheten hadde vært stoppet siden 1997. SVG har tillatelse til å deponere inntil 4 millioner tonn suspendert stoff (avgangsmasse) og inntil 35 tonn flokkuleringsmiddel årlig i Bøkfjorden. Avgangen slippes ut via et rør på 28 m dyp ca. 450 m fra land i Kirkenes.

Utslippstillatelsen innbærer også anledning til å benytte flokkuleringskjemikaliene Magnafloc 10 og Magnafloc 155, som begge inneholder polyakrylamid som virkestoff, og dessuten Magnafloc 1707. Magnafloc 1707 benyttes imidlertid ikke mer av bedriften og er erstattet med et lignende kjemikalie, koaguleringsmiddelet Magnafloc LT38, hvor virkestoffet har en større kjedelengde enn Magnafloc 1707. Dette kjemikaliene inneholder et virkestoff omtalt som polyDADMAC (2-Propen-1-aminium, N,N-dimethyl-N-2-propenyl-klorid). Bedriften har tillatelse til et årlig forbruk på 35 tonn med flokkuleringskjemikalier (målt som mengde virkestoff) hvorav 8,2 tonn kan være polyDADMAC.

I tillatelsen legges det føringer for at bedriften må gjennomføre et overvåkingsprogram og undersøkelser knyttet til eventuelle giftige effekter av polyDADMAC. Undersøkelsene som rapporteres i denne rapporten, omfatter turbiditetsmålinger, undersøkelser av forholdene på bunnen ved sedimentprofilografering (SPI), utsetting av blåskjell for biomarkøranalyser (helseparametere hos skjell) og giftighetstester av prosesskjemikalier som brukes av SVG. Deler av undersøkelsene (turbiditetsmålinger, SPI-undersøkelser) er en videreføring av den overvåkingen som ble gjort i 2010.

Totalt tyder giftighetstestene på at det under normale driftsforhold ikke vil opptre akutt-toksiske effekter selv i utslippets nærområde. Testene med alger og børstemark som har subletale endepunkter tyder heller ikke på at Magnafloc 10 (polyakrylamid) og Magnafloc LT38 (polyDADMAC) gir negative miljøeffekter ved dagens driftsforhold.

De gjennomførte feltundersøkelsene viser at hovedinfluensområdet for utslippene fra SVG er området i Bøkfjorden innenfor Reinøya, men at det i de dypere deler av vannsøylen utenfor Reinøya opptrer partikkeltetthet i vannet som ligger marginalt over det en antar er bakgrunnsnivå. Det ser imidlertid ikke ut til at forekomst av slike partikler fører til en sedimentering som gir uheldige effekter på bunnfauna utenfor Reinøya. Innenfor Reinøya er det imidlertid i hovedsak svært dårlige forhold for bunnfauna.

Turbiditet/hydrografi

Målinger ble gjennomført på 33 lokaliteter i resipienten for å få et bilde av partikkelpredningen. En sterk ferskvannspåvirkning ble observert i overflatelaget i hele Bøkfjorden med en sterk sjiktning. Spranglaget lå på ca. 3 m dyp. Under dette brakkvannslaget var saltholdighet relativt lik (ca. 34-35) helt ned til bunn hvor den i de dypeste områder var ca. 35.2 PSU. I Langfjorden innenfor Straumen var brakkvannslaget betydelig tykkere enn i Bøkfjorden. Det ble ikke påvist noen tydelig transport av partikler fra grunnområdene ved Slambanken til nærliggende stasjoner. Partikkelkonsentrasjonen var høyere i vestre delen av fjorden enn i østre del, i alle fall ut til ca. 3 km fra utslippet.

Den høyeste turbiditeten ble observert ved utslippspunktet (10-12 FTU, 1 FTU tilsvarer ca. 1 mg/L med partikler). Resultatene av turbiditetsmålingene fra begge år tyder på at det meste sedimenterer innenfor de nærmeste 6 km (omtrent til Reinøy). Typiske maksimalverdier for turbiditet utenfor Reinøya ligger rundt 1 FTU nær bunnen og mindre enn 0,5 FTU i de øvre 50 m (dvs. på bakgrunnsnivå). Det ble i 2011 observert en antydning til oppvirvling i områder nær Reinøya begrenset til 100 m over bunnen, muligens pga. lokale strømforhold ved Reinøy.

På noen stasjoner innerst i fjorden økte turbiditeten i den nederste del av vannsøylen (eksempelvis TL, nær Passvikelvans munning). Fordi det ikke er noen tydelig partikkeltransport i det øverste

ferskvannslag er det en mulighet for at disse partiklene stammer fra utslippet til SVG, men også i fjorder uten partikkelutslipp kan det forekomme en økning i turbiditet mot bunnen, og naturlig oppvirvling pga. bunnstrømmer kan også være en forklaring. På andre stasjoner nær utslippet (eksempelvis stasjon T1) er det mer åpenbart at den høye turbiditeten nær bunnen skyldes utslippene fra SVG. I den ytre del av Bøkfjorden antydes en økt turbiditet ved bunnen. Tykkelsen på dette laget er i størrelsesorden 50-150 m og er vesentlig tykkere enn det en normalt ser i fjorder uten partikkelutslipp, noe som tyder på at turbiditeten i dette vannvolumet er forårsaket av andre forhold enn naturlige prosesser ved bunnen. Tykkelsen på bunnlaget antyder at en i deler av Bøkfjorden utenfor Reinøya har en svak påvirkning fra gruvedriften, men ved turbiditetsverdier på mindre enn 1 FTU begynner man å nærme seg det som må oppfattes som bakgrunnsverdi slik at påvirkningen trolig er marginal. Terskelen på ca. 100 m dyp ca. 17 km fra utslippet virker som en barriere mot videre transport av partikler ut i Varangerfjorden.

Forholdene på bløtbunn i dypområdene

Sedimentprofilfotografering (SPI) er en rask metode for visuell kartlegging og klassifisering av sediment og bløtbunnsfauna. Det ble i 2011 gjennomført fotografering på i alt 14 stasjoner.

Hovedbildet etter undersøkelsene i 2011 er at det er svært dårlige betingelser for bunnfauna fra utslippspunktet og ut til Reinøy. På stasjoner nærmest utslippet (KS-03 og KS-4, dvs. til ca. 1.7 km fra utslippet) består overflatesedimentet utelukkende av avgang slik at en her har en relativ massiv sedimentering.

På stasjonen rundt Reinøya (KS-7, KS-7N, KS-RNØ og KS-8) varierer imidlertid tilstanden relativt mye (god-meget dårlig). Dette skyldes trolig flere forhold, men en antar at varierende grad av skjerming mot avgangspåvirkning er viktigst. På de mer fjerntliggende stasjoner utenfor Reinøya (KS-14, KS-19, KS-22, KS-Kros) er det gode forhold for bunnfauna.

Resultatene tyder også på at det ikke er noen entydig tendens til at forholdene har endret seg fra 2010 til 2011, men forholdene innenfor Reinøya er klart forverret siden gjenåpning av produksjonen i gruva i 2007.

Burforsøk med blåskjell

Blåskjell (*Mytilus edulis*) ble utplassert i bur på 3 steder i Bøkfjorden, henholdsvis 0,6 km, 3 km og 10 km fra utslippspunktet til SVG over en periode på ca. 6 uker. Blåskjell ble valgt fordi det er en organisme som en har mye erfaring med fra utplasseringsforsøk i andre områder. Det er også en organisme som opptrer lokalt. Burene ble utplassert i ca. 30 m dyp. Blåskjellene opptrer normalt ikke i 30 m dyp, men forsøk fra andre områder har vist at det ikke er noe problem å holde skjell i slike dyp, og under spesielle forhold kan blåskjell også opptre nedenfor tidevannssonen. Utplasseringsdypet på 30 m ble valgt som et kompromiss mellom naturlig dybdeutbredelse av blåskjell og dyp der det kunne tenkes å opptre partikler fra utslippene fra SVG. Turbiditetsmålinger antyder at det på stasjonen nærmest utslippet kan opptre turbiditetsverdier som kan knyttes til utslipp fra SVG, mens det på de øvrige to stasjoner var vanskelig å se noen slik påvirkning i 30 m dyp. Ved avslutning av forsøkene ble det analysert for parametere som har relevans for skjellenes helsetilstand (biomarkører) for å avklare i hvilken grad skjellene påvirkes av utslippet til SVG. Som eksponeringskontroll ble det ved avslutning av forsøkene også gjennomført analyse av metaller i skjellene. Med unntak av jern på stasjonen nærmest utslippet var metallnivåene som forventet i et fjordområde uten punktkilder. Følgende helseparametere ble undersøkt: kondisjonsfaktor, overlevelsessevne i luft (Stress on stress), tilgjengelig energi for vekst (Cellular energy allocation), reduksjon i cellemembran integritet (Neutral red retention time), graden av kromosomskade (Micronuclei formation), cellevolum av viktig celletype i fordøyelseskjertel (Basophilic cell volume) og lipidmetabolisme (Neutral lipid accumulation). Resultatene fra målinger av de enkelte helseparametere ble sammenstilt i en integrert indeks (Integrated biological response index). Av 10 metaller som ble analysert var det bare aluminium og jern (et viktig metall i avgangen) som viste forskjeller på stasjonene i Bøkfjorden. For jern var det en avtagende konsentrasjon fra utslippet og utover i Bøkfjorden. Resultatene fra jernanalysene og turbiditetsmålingene indikerer en avtagende eksponering fra SVG utover i fjorden. En del av biomarkørmålingene (kondisjonsindeks, overlevelse i luft, cellevolum av viktig celletype i

fordøyelseskjertel) indikerer at helsetilstanden til skjellene, i hvert fall delvis, var påvirket av utslippet til SVG. For andre biomarkører (tilgjengelig energi for vekst, reduksjon i cellemembran-integritet, graden av kromosomskade og lipidmetabolisme) ble det imidlertid ikke observert noen slik effekt. Den integrerte responsindeksen indikerer likevel at helsetilstanden til skjellene var noe svekket på de to stasjonene nærmer utslippet til SVG. Basert på responsen av enkeltbiomarkører anses likevel den biologiske effekten å være liten.

Giftighetstesting med alger (*Skeletonema costatum*)

Testene er gjennomført som en test av veksthemming over en periode på 72 timer. Testvannet ble fremskaffet ved å blande sjøvann og testmateriale (avgang/sediment tilsatt ulike mengder Magnafloc 10 og Magnafloc LT38). Det ble også gjennomført tester av vann tilsatt Magnafloc LT38 direkte. Ingen vekstreduksjon ble observert i vann eksponert for gruveavgang alene, sediment fra nær utslippspunktet eller i vann fra en slurry (vann/partikkelblanding) med avgang tilsatt de konsentrasjoner som oppstår under normale driftsforhold. Kun ved tilsetning av Magnafloc LT38 opp mot 32-56x av oppgitt realistisk konsentrasjon i avgangen ved normaldrift ble det utløst tilstrekkelig med Magnafloc LT38 til at en fikk en veksthemming hos algen. Magnafloc 10 påvirket ikke veksten til *Skeletonema costatum* negativt, hverken alene eller i kombinasjon med normalkonsentrasjoner av Magnafloc LT38. Testene tyder på at opptil 99.8 % av innblandet Magnafloc LT38 er bundet i gruveavgangen, men at gruveavgangen har et metningspunkt som overskrides ved 100x antatt realistisk bruks konsentrasjon av Magnafloc LT38. To tester med Magnafloc LT38 som rensustans ga en EC50 på henholdsvis 1,9 mg/l og 1,0 mg/l.

Giftighetstester med krepsdyr (*Acartia tonsa*)

Testen er en 48 timers test, hvor 17-24 dager gamle copepoder blir eksponert for test materialet løst i vann. Testvannet ble fremskaffet ved å blande sjøvann og testmateriale i gruveavgang tilsatt ulike mengder Magnafloc 10 og Magnafloc LT38. Forholdet sjøvann/gruveavgang var 3/1 på vektbasis. Det ble ikke observert dødelighet hos *Acartia* eksponert for sjøvann fra sediment fra utslippsområdet i Bøkfjorden. Det ble heller ikke observert dødelighet hos *Acartia* eksponert for vannfasen fra gruveavgang som inneholder inntil 100x antatt bruksnivå for Magnafloc LT38. Eksponering for kombinasjonen 100x bruksnivå av Magnafloc LT38 og 10 x bruksnivå av Magnafloc M10 ga heller ingen dødelighet. Testene viser at eventuelle vannløselige forbindelser i avgang, sediment fra utslippsområdet og fra gruveavgang som inneholder realistiske konsentrasjoner med Magnafloc 10 og Magnafloc LT38 ikke gir et akutt giftighet for pelagiske krepsdyr som *Acartia tonsa*.

Giftighetstester med strandkrabbe (*Carcinus maenas*)

Det ble ikke observert dødelighet av krabber eksponert for inntil 100x antatt bruksnivå for Magnafloc LT38. Kombinasjonen 100x Magnafloc LT38 og 10x Magnafloc 10 nivå ga heller ingen dødelighet. Testen viser at hverken avgangen alene, sedimentet fra nærområdet til utslippet eller avgang tilsatt realistiske konsentrasjoner med Magnafloc 10 (polyakrylamid) og LT38 (polyDADMAC) ved normale driftsforhold er akutt giftig for krabbe.

Giftighetstester med piggvar (*Scophthalmus maximus*)

Testen er utført som en «limit test» ved plassering av fisk på substrat (sediment/gruveavgang) tilsatt ulike mengder Magnafloc 10 og Magnafloc LT38. Testene ga ingen dødelighet hos piggvar eksponert for inntil 100x antatt bruksnivå for Magnafloc LT38 og 10x bruksnivå av Magnafloc 10. Kombinasjonen 100x Magnafloc LT38 og 10x Magnafloc 10 nivå ga heller ingen dødelighet. Testen viser at hverken avgangen alene, sedimentet fra nærområdet til utslippet eller avgang tilsatt realistiske konsentrasjoner med Magnafloc 10 og Magnafloc LT38 ved normale driftsforhold er akutt giftig for fisken.

Giftighetstester med børstemark (*Arenicola marina*)

Fjæremark (*Arenicola marina*,) er mark som lever nedgravd i sedimentet. Toksisitetstesten med fjæremark går ut på å måle hvor godt marken finner seg til rette i det aktuelle sedimentet som skal testes. Dersom sedimentet er av tilstrekkelig kvalitet forventes det at marken graver seg ned og

prosesserer mye av sedimentet. Da vil man kunne observere haugene med "avføring" på toppen av sedimentet ("casting"). Er sedimentet av dårlig kvalitet, eksempelvis i form av et høyt innhold av giftstoffer, vil man ikke observere tilsvarende mengder "avføring" (lav "casting rate"), og marken vil dessuten kunne reagere atferdsmessig ved ikke å grave seg ned i sedimentet. Sediment av dårlig kvalitet vil også kunne medføre dødelighet.

Testen ble gjennomført med sediment som inneholdt avgang fra Sydvaranger gruve, med og uten Magnafloc LT38 (maksimalkonsentrasjon: Avgang med Magnafloc LT38, ca. 675 mg/kg t.v. og kontrollsediment i forhold 1:1) og Magnafloc 10 (maksimalkonsentrasjon: Avgang med Magnafloc 10, ca. 99 mg/kg t.v. og kontrollsediment i forhold 1:1). Sediment tatt ca. 200 m fra utslippet i Bøkfjorden ble også testet. Det ble benyttet sediment fra Ytre Oslofjord som kontrollsediment.

Resultatene indikerer at avgangsmaterialet med de benyttede konsentrasjonene av Magnafloc LT38 og Magnafloc 10 ikke er akutt giftig for fjæremark. Sedimentet som var samlet inn i nærheten av utslippet i Bøkfjorden og fortynnet 1:1 med kontrollsediment var heller ikke giftig for fjæremarken. Fjæremarken viste normal aktivitet og fødeinntak i substrat med konsentrasjoner av Magnafloc LT38 tilsvarende det som nominelt kan tenkes i sediment ved en produksjon på 3 mill. tonn pr år. Ingen avvikende adferdsrespons ble sett ved tilsetning av Magnafloc 10. Fjæremarken viste også normal aktivitet og fødeinntak i sediment tatt i nærheten av utslippet i Bøkfjorden, men viste avvikende adferd ved de høyeste doseringene.

Resultatene viser at sedimentene selv i nærområdet til utslippet, dvs. med den restmengde produksjonskjemikalier som normalt havner på bunnen fra avgangsdeponeringen, ikke fører til akutt dødelighet hos fjæremark og heller ikke fører til avvikende adferdsrespons slik en ville antatt dersom sedimentets fysiske/kjemiske egenskaper var uforenelig med normal adferd. Forsøkene er en akutttest og betyr nødvendigvis ikke at bunndyr i sin alminnelighet trives i sedimentene. Resultatene fra SPI-undersøkelsene tyder også på ugunstige forhold for bunnfauna i utslippets nærområde. Dette skyldes trolig nedslammingeffekter og at avgangen inneholder svært lite organisk karbon heller enn at det forekommer toksiske konsentrasjoner av gruvekjemikalier i sedimentet.

Summary

Title: Monitoring in the Bøkfjord in 2011 including testing the toxicity of two chemicals (Magnafloc LT 38 and Magnafloc 10) used by the mining industry

Year: 2011

Authors: John Arthur Berge, Bjørnar Beylich, Steve Brooks, Pierre Franqois Jaccard, August Tobiesen and Sigurd Øxnevad

Source: Norwegian Institute for Water Research

ISBN No.: 978-82-577-6045-8

The mining company Sydvaranger Gruve AS (SVG) reopened the production of iron ore concentrate in 2009 after the production had been stopped since 1997. SVG has permission to dispose 4 mill. tons of tailings and up to 35 tons of flocculation agents into the Bøkfjord at Kirkenes in the north of Norway. The tailings are discharged at 28 m depth in the fjord 450 m from land at Kirkenes. The discharge permit opens for the use of two flocculation agents (Magnafloc 10 and Magnafloc 1707). Magnafloc 1707 is now replaced by a similar agent (Magnafloc LT38). Magnafloc 10 contains polyacrylamide as the active compound and Magnafloc LT38 contains a polymer of 2-Propen-1-aminium, N,N-dimethyl-N-2-propenyl-chloride (known as polyDADMAC) as the active substance. The discharge permit presupposes the implementation of an environmental monitoring program in Bøkfjorden where the tailings are discharged and investigations on possible harmful effects of the discharge of polyDADMAC.

In this document we report the results from monitoring in the Bøkfjord in 2011. The monitoring comprise turbidity measurements, conditions for soft bottom organisms, experiments with caged mussels to assess the potential biological effects of the discharge and tests on possible toxicity of polyacrylamide and polyDADMAC. The investigation is considered to be a follow up of a preliminary study performed in 2010.

*The toxicity test show that acute toxic effects from Magnafloc 10 (containing polyacrylamid) and Magnfloc LT38 (containing polyDADMAC) are not likely to occur, even near the discharge point, under normal operating conditions at SVG. The test with sublethal endpoints (*Skeletonema* test and *Arenicola* test) do not either indicate that polyacrylamide and polyDADMAC will result in environmental effect under such conditions. The investigations in the fjord show that the main area of influence of the discharges from SVG is from the dischargpoint at Kirkenes and out to the island Reinøya aproximately 6 km from the discharg point. At more distant locations in the Bøkfjord a slight increas in turbidity could be observed in the deeper part of the watercolumn. This did however not result in sedimentation to a degree sufficient to cause effect on the bottom fauna outside Reinøya.*

Hydrography/turbidity

Measurements were performed at 33 stations in order to get a picture of the distribution of particles discharged to the Bøkfjord. A high influence of freshwater was observed in the top 0-3 m of the fjord. Salinity was however relative high and stabile (34-35 PSU) below this brackish surface layer. The brackish layer were however much thicker in the Langford inside Storstraumen. There were not observed any apparent transport of particles from the shallow parts of Langfjorden (Slambanken) to nearby stations. Particle concentrations in the inner part of the fjord were generally higher on the west side of the fjord than on the east side. The highest turbidity was observed at the discharge point (10-2 FTU, 1 FTU correspond to approximately 1 mg/L of suspended matter). The result of the turbidity measurements indicates that most of the particles will settle to the bottom within 6 km (Reinøy) from the discharge point. Typical maximum turbidity values at Reinøya was 1 FTU near the bottom and less

than 0,5 FTU (background level) in the top 50 m of the water column. The turbidity increased near the bottom at some of the stations in the innermost part of the fjord (for example TL, near the mouth of the Pasvik river), probably due to resuspension of bottom sediment or discharges from SVG. An increased turbidity was also observed in the lower parts of the water column in the outer part of the fjord (outside Reinøy). The thickness of this layer was 50-150 m above the bottom and is clearly thicker than what is normally observed in fjords without discharges. This indicates a slight influence of the discharges from SVG in the bottom water also outside Reinøy, but the turbidity is low (near 1 FTU) and is thus near what is considered background levels. There is no distinct sill in the Bøkfjord until the fjord joins the Varangerfjord. In this area (15-17 km from Kirkenes) a sill is evident. This sill restricts the water exchange between the deeper parts of Bøkfjorden and the Varangerfjord further north. Consequently, particles that sink deeper than approximately 100 m in the Bøkfjord will to a large extent be retained there.

The conditions on soft bottom in the deeper part of Bøkfjorden

Observations performed with a sediment profiling camera (SPI) are a quick method for visual mapping and classification of sediment and bottom fauna. In 2011, 14 stations in Bøkfjorden were investigated with this method. The observations showed that there were very bad conditions for bottom fauna on the bottom in Bøkfjorden from the discharge point and out to Reinøy. The surface sediment at the stations near the discharge point (KS-03 and KS-4, i.e. out to 1.7 km from the discharge point) contained solely of tailings and shows a massive sedimentation of discharged material. The conditions on the bottom at stations around Reinøya (KS-7, KS-7N, KS-RNØ and KS-8) varied however (good to very bad). This is probably caused by several factors, and a varying degree of shielding against influence from suspended particles in this area are considered most important. Good conditions for bottom fauna were observed on the more distant stations outside Reinøya (KS-14, KS-19, KS-22, KS-Kros). The results show no clear change in the conditions for bottom fauna from 2010 to 2011. The investigation do however shows that the conditions for soft bottom organisms near Kirkenes were less favourable in 2010 and 2011 compared to 2007 (i.e. before the mine was reopened).

Caged mussels in Bøkfjorden - Biological effects studies

The blue mussel (*Mytilus* spp.) has been used to assess the potential biological effects of the discharge from SVG. Sensitive health biomarkers and metal bioaccumulation were measured in mussels caged at varying distances (0,6 km, 3 km and 10 km) from the discharge outlet in Bøkfjorden. The mussel cages were deployed at a depth of 30 m. The biomarkers used include: Stress on stress; condition index; cellular energy allocation; micronuclei formation; lysosomal membrane stability by neutral red retention; basophilic cell volume; and neutral lipid accumulation. The individual biomarkers were integrated using the integrated biological response index (IBR/n). The accumulation of Fe and Al was significantly higher in mussels located closer to the discharge outlet, indicating that these mussels had been exposed to the mine effluent. The IBR/n results were in good agreement with the location of the mussels in relation to the distance from the discharge outlet. The biomarker responses were not severe but did exhibit effects for some of the biomarkers resulting in a higher IBR/n in the mussels closest to the outlet. However, based on the individual biomarker responses the overall biological effects measured in the exposed mussels were considered low.

Toxicity tests with the algae (*Skeletonema costatum*)

Possible growth inhibition in the algae is assessed over a period of 72 h. The test water is produced by mixing the Mangafloc LT38 and Magnafloc 10 thoroughly into the mine tailings to produce a slurry. Seawater is added to the mixed mine tailings in a 3:1 proportion and left on a shaking table for 2 days before using the seawater in the tests. In addition Magnafloc LT38 was tested directly in seawater testmedium. No growth inhibition were observed in seawater exposed to untreated mine tailings, mine tailings from Bøkfjorden nor mine tailings treated with test compounds levels assumed for normal operations. Only when levels of Mangafloc LT38 were reaching levels of 32-56x levels of normal operation conditions were significant growth inhibition observed. Magnafloc 10 did not affect growth either alone, up to 10x normal operation levels or in combination with Magnafloc LT38. The tests indicate that up to 99.8 % of added Mangafloc LT38 may be immobilized and adsorbed by the mine tailings. However the tailings have a saturation point after which no more Magnafloc is immobilized,

which occurs at 100x normal operation levels of Magnafloc LT38. The two test with Magnafloc LT38 in test medium directly gave EC50 values of 1.9 mg/l and 1.0 mg/l.

Toxicity tests crustaceans (*Acartia tonsa*)

The tests are a 48h mortality tests, with 17-24 day old copepods are exposed to the test material dissolved in water. Test water is achieved by mixing the test compounds into the mine tailing to produce a slurry. Seawater is added to the mixture in a 3:1 proportion and left to stand for 2 days on a shaking table. No significant mortality was observed in seawater exposed to untreated mine tailings, mine tailings from Bøkfjorden nor mine tailings treated with test compounds levels assumed for normal operations. Neither did mine tailings with 100x normal operation levels of Magnafloc LT38 nor in combination with 10x Magnafloc 10 give any mortality.

Toxicity tests with Shore crab (*Carcinus maenas*)

The test system consisted of mine tailings treated with Magnafloc LT38 and/or Magnafloc 10. The tailings were placed as a 2 cm layer in an aquarium and added 8 cm of seawater, giving a water/sediment proportion of 2. The aquarium was left to stand for 2 days before adding test organisms. No mortality was observed for crabs exposed for up to 100x normal operation levels for Magnafloc LT38. The combination 100x Magnafloc and 10x Magnafloc 10 did not give any mortality either. Non treated tailings and tailings/sediments from Bøkfjorden did not either give mortality.

Toxicity tests with turbot (*Scophthalmus maximus*)

The test system consisted of mine tailings treated with Magnafloc LT38 and/or Magnafloc 10. The tailings were placed as a 2 cm layer in an aquarium and added 8 cm of seawater, giving a water/sediment proportion of 2. The aquariums were left to stand for 2 days before adding test organisms. The test was performed as a "limit test" with 10 fish in each aquarium. No mortality was observed for fish exposed for up to 100x normal operation levels for Magnafloc LT38. The combination 100x Magnafloc and 10x Magnafloc 10 did not give any mortality either. Non treated tailings and tailing/sediments from Bøkfjorden did not either give mortality.

Toxicity tests with lugworm (*Arenicola marina*)

The lugworm is a polychaete that lives buried in the sediment and extract food from eating sediment. The test evaluates whether the worm thrives in the sediment by observing borrowing and feeding activities (casting = feces heaps on sediment surface). Bad quality sediment reduces casting and burrowing activities. Toxic sediments may induce mortality.

Test sediments were derived by mixing x100 normal operational levels of Magnafloc LT38 and/or 10x Magnafloc 10 into mine tailings. This treated mine tailing were then further mixed with control sediment in proportion 1:1, this was equal to the maximum test level, medium test level was a mixture of 1:9 and low level was a 1:99 mixture. This gives a total combination of 9 different test levels. In addition normal levels of Magnafloc LT38 and 10x Magnafloc 10 were mixed into mine tailings and mixed with reference sediment in the proportions 1:1, 1:9 and 1:99.

There was no significant mortality in any of the tests indicating that even the highest tested concentration was not acute toxic to the lugworm.

Sediment mixtures with normal operational levels of Magnafloc LT38 and Magnafloc 10 resulted in normal burrowing and feeding activity by the lug worm, as did mine tailings/sediment from Bøkfjorden. At maximum tested levels treatment levels both burrowing and feeding behavior were severely reduced.

This is an acute test and even though normal borrowing and feeding is observed this does not mean that bottom fauna would thrive in the test sediments in the long run. The physical and chemical composition may be of a quality that does not support the bottom fauna in long term. For example the amount of organic matter would in this case, probably be too low. The results of the SPI study support this notion and indicate non favorable conditions for sediment dwellers close to the discharge. This is thought to be mainly due to the effect of continuous deposition and lack of organic matter, rather than an effect of the mining chemicals used.

1. Innledning

1.1 Bakgrunn

Sydvaranger Gruve AS (SVG) startet i 2009 opp produksjon av høyverdig jernmalmkonsentrat, etter at virksomheten hadde vært stoppet siden 1997.

Produksjonen til SVG er basert på utvinning av jernmalm fra dagbruddene i Bjørnevatn. Både i perioden før 1997 og etter oppstart i 2009 har SVG deponert avgang fra produksjonen i Bøkfjorden utenfor Kirkenes. Produksjonskapasiteten er på 7 mill. tonn jernmalm per år, som genererer 4 mill. tonn avgangsmasse. Bedriften har en tillatelse (tillatelse nr 2008.190.T) for utslipp til Bøkfjorden, sist endret 6. april 2011. Tillatelsen gir rom for et årlig utslipp på 4 mill. tonn med avgang i året. Avgangen slippes ut via rør på 28 m dyp ca. 450 m fra land i Kirkenes (**Figur 1**).

Avgangen består i hovedsak av kvarts, amfibol og noe magnetitt og konsentrasjonen av faststoff i avgangsrøret er ca. 520 g/l. Avgangen inneholder ikke tungmetaller utover det som er normalt i ikke-sulfidiske bergarter. Avgangen tilsettes sjøvann for å sikre at partikkelskyens egenvekt er større enn det omgivende sjøvannet, slik at skyen synker mot bunnen. Dette er dokumentert i tidligere undersøkelser i Bøkfjorden (Skei et al., 1995, Berge et al 2011).

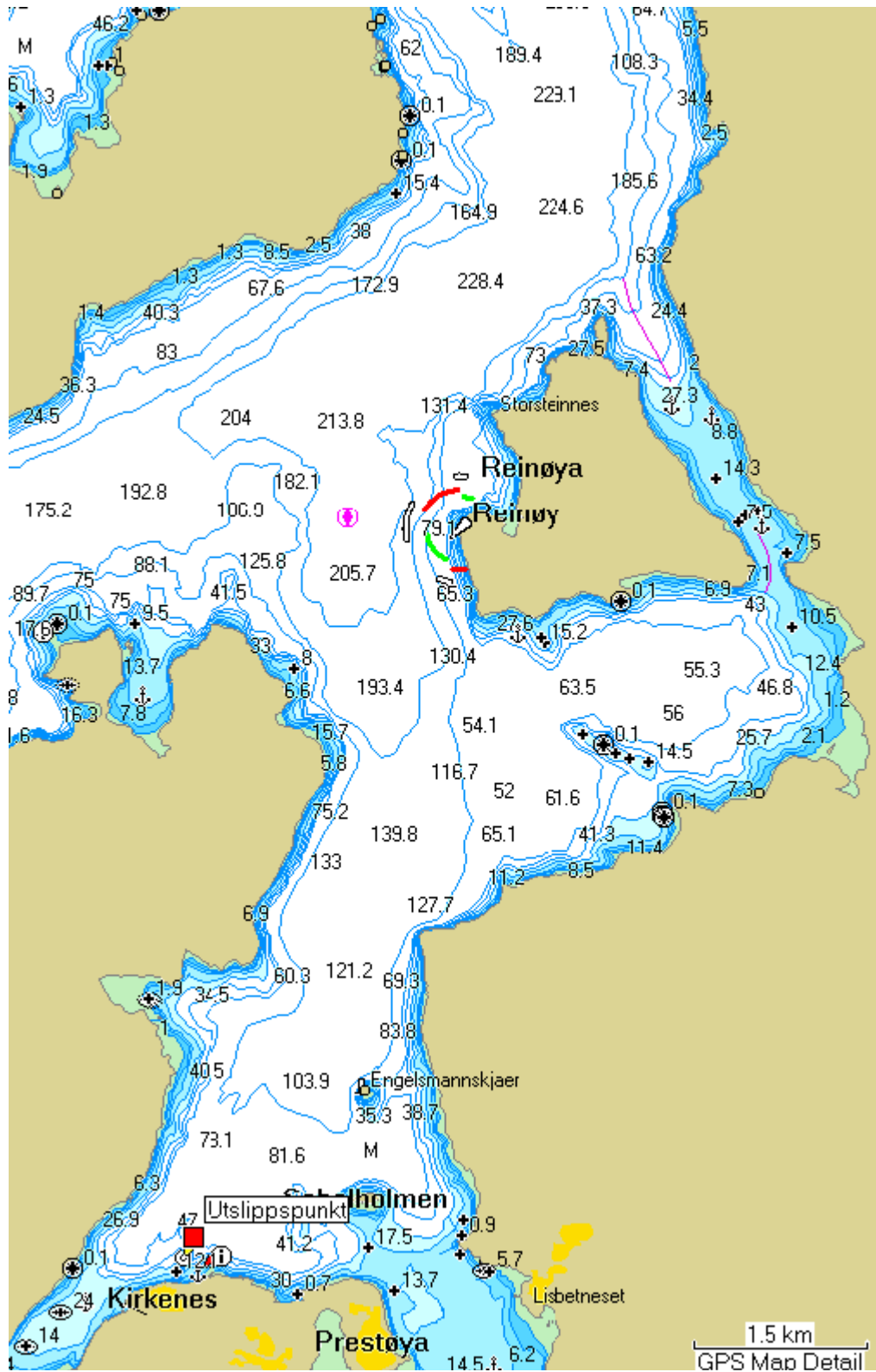
Utslippstillatelsen innbærer også tillatelse til å benytte flokkuleringskjemikalier Magnafloc 10 og Magnafloc 155 (som begge inneholder akrylamid som virkestoff) og Magnafloc 1707 som inneholder et virkestoff omtalt som polyDADMAC. Magnafloc 1707 brukes imidlertid ikke nå av bedriften og er erstattet med et lignende kjemikalie, Magnafloc LT38. Dette kjemikaliene inneholder også polyDADMAC (2-Propen-1-aminium, N,N-dimethyl-N-2-propenyl-chloride, i følge HMS-datablad, se vedlegg). Bedriften har tillatelse til et årlig forbruk på 35 tonn med flokkuleringskjemikalier (målt som mengde virkestoff) hvorav 8,2 tonn kan være polyDADMAC. I tillatelsen legges det føringer for at bedriften må gjennomføre et overvåkingsprogram.

Bedriften fikk i 2010 gjennomført en forundersøkelse for et miljøovervåkingsprogram i Bøkfjorden. Undersøkelsene (se Berge et al. 2011 for detaljer) viste en massiv partikkelpåvirkning ved selve utslippet i alle dyp unntatt de øverste ca. 15 m. I den indre delen av Bøkfjorden ble turbiditetsmaksimum normalt observert mellom 20 og 60 m dyp. Utenfor Reinøya (dvs. i en avstand av mer enn 6 km fra utslippet) kunne ikke utslippet identifiseres klart i de øvre 100 m og de høyeste turbiditetsverdiene observert dypere enn 100 m. Undersøkelsene bekreftet at avgangspartiklene synker mer og mer ut av vannmassene over terskelnivå (dvs. ca. 100 m) dess lenger en kommer ut i fjorden. Mesteparten av avgangen så ut til å havne innenfor Reinøy, men en viss avgangspåvirkning kunne også påvises i dypvannet lenger ut. Hardbunnsorganismene i overflatelaget synes ikke å være nedslammet av gruveavgang. Noe nedslamming ble observert enkelte steder på dypere vann, særlig i dyp større enn 30 m, men det var vanskelig å slå fast om dette skyldes utslipp av avgang. Det ble observert meget dårlige forhold for bløtbunnsfauna fra Kirkenes og ca. 4 km nordover. Utenfor Reinøya kunne forholdene karakteriseres som gode med hensyn til bløtbunnsfauna. Undersøkelsene viser at forholdene for bunnfauna nærmest Kirkenes hadde forverret seg fra 2007 til 2010.

Deler av undersøkelsene som presenteres i denne rapporten (turbiditetsmålinger, SPI-undersøkelser) er en videreføring av den overvåkingen som ble gjort i 2010 og er også i tråd med føringene gitt i utslippstillatelsen. Det ble imidlertid også gjennomført utplassering av blåskjell i bur i ulik avstand fra utslippet for å måle om miljøforholdene påvirker ulike helseparametere (biomarkører) hos skjell i resipienten.

Utslippstillatelsen legger imidlertid også føringer for at bedriften må gjennomføre undersøkelser knyttet til eventuelle giftige effekter av polyDADMAC. PolyDADMAC er en polymer. Etter det en kjenner til finnes det ikke kommersielle analyselaboratorier som kan analysere denne polymeren i organismer eller andre matrikser i resipienten. Det ble også vurdert at det var nødvendig med store ressurser til for å kunne komme frem til en anvendelig metode for slike analyser. En har derfor ikke kunnet gjennomføre undersøkelser av forekomst av polyDADMAC i resipienten. I stedet har vi derfor gjennomført ulike tokstester der vi har tilsatt polyDADMAC i konsentrasjoner og matrixer som er relevante/meningsfulle i forhold til det som antas å kunne opptre i Bøkfjorden. I testene er også polyakrylamid fra Magnafloc 10 benyttet.

I dette dokumentet presenteres resultatene fra overvåkingen som ble gjennomført i 2011. Undersøkelsene er ment å være en fortsettelse og en utdyping av de undersøkelsene som ble foretatt i 2010. Det presenteres også resultater av feltforsøk og giftighetstesting i laboratorium som har som minimumsmål å tilfredsstille Klifs krav i utslippstillatelsen av 6. april 2011.

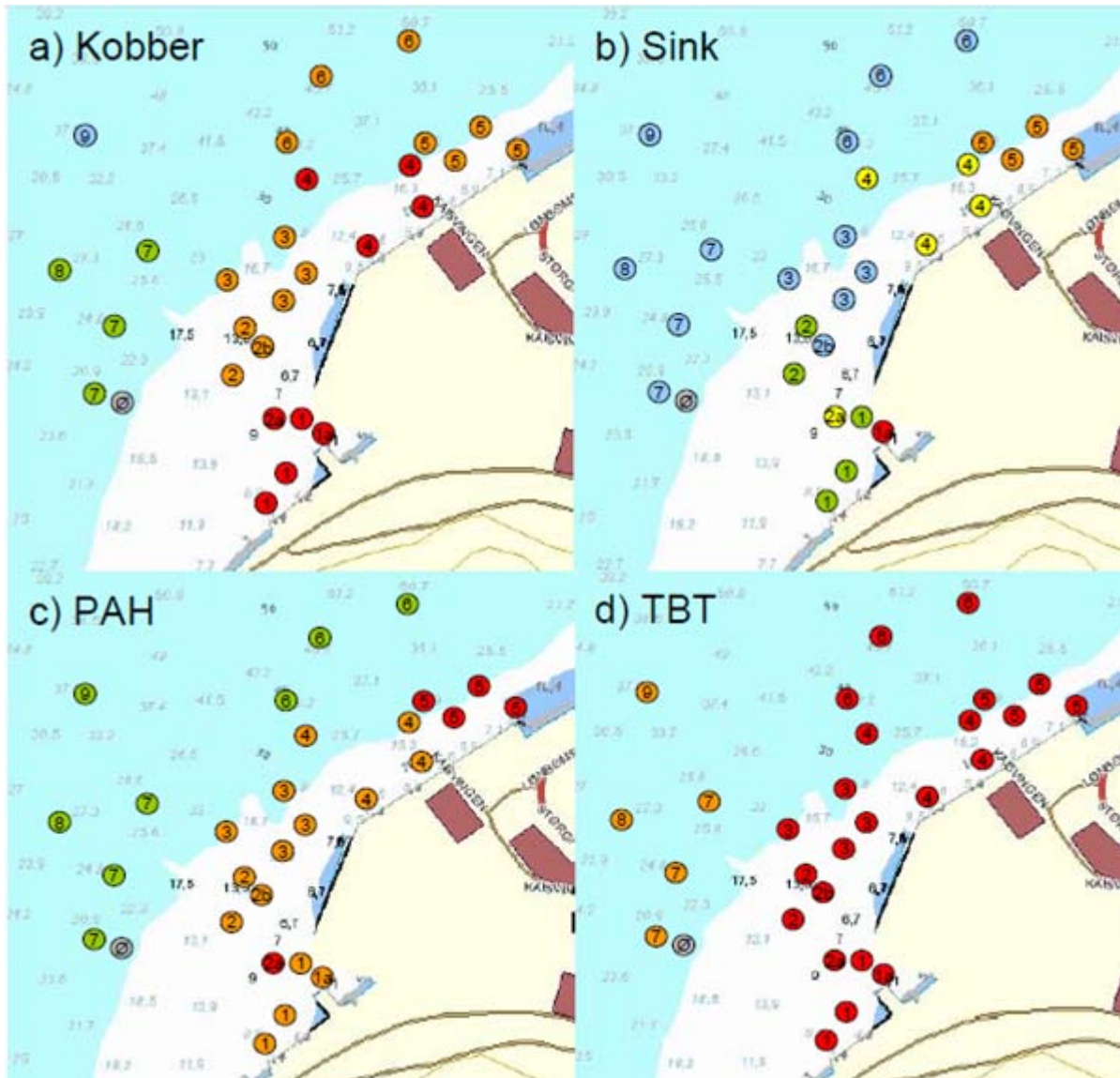


Figur 1. Kart som viser utslippspunktet (rødt kvadrat) i resipienten.

1.2 Andre påvirkningsfaktorer i fjorden

1.2.1 Forurenset sediment utenfor Kimek AS

Norconsult har foretatt undersøkelser og risikovurdering av miljøgifter i sediment utenfor ved kaiene ved verftet Kimek AS i Kirkenes (Norconsult 2008). Undersøkelsene viser at området langs kaia er sterkt forurenset av spesielt kobber, PAH-forbindelser og TBT (**Figur 2**). Det ytre området var kun forurenset av TBT og noe kobber. Forurensningsnivået avtok med avstand til verftet og indikerer at forurensningen kommer fra verftsaktiviteter eller utlekking fra land. En risikovurdering (cf. Trinn 2, i Klifs risikoveileder TA-2802/2011) viste at forurensningen av kobber, PAH og TBT i sedimentet representerer en potensiell økologisk risiko for marint liv. Dette er understøttet av økotoksikologiske tester som viser at konsentrasjonen i sedimentet er så høy at miljøet i sedimentet er giftig for marine organismer. Økotoksikologiske tester viser også at dioksiner og dioksinlignende forbindelser ikke bidrar til risiko for forurensning. Analysene viste videre at det ikke var potensiell risiko relatert til human helse så lenge det ikke konsumeres fisk og sjømat fra området. Det innerste området ved kaiene var sterkt forurenset og utgjorde en potensiell risiko forbundet med transport og spredning av forurensning til det ytre området som var betydelig mindre forurenset. Dette gjaldt spesielt for kobber og PAH-forbindelser. I Norconsults rapport ble det også uttalt at i henhold til akseptkriteriene for området så var den potensielle risikoen for forurensning uakseptabelt høy, og det ble anbefalt å utarbeide en tiltaksplan for å bringe risiko for forurensning ned til et akseptabelt lavt nivå. Det forurensete området utenfor Kimek ligger ca. 1 km fra utslippspunktet til SVG.



Figur 2. Kart som viser stasjoner for undersøkelser av miljøgifter i sediment. For hver stasjon er tilstandsklasse (cf. TA-2229/2007) angitt (kilde: Norconsult 2008)

1.2.2 Kommunalt utslipp

Kommunal kloakk fra Kirkenes går i hovedsak ut i fjæra eller på grunt vann uten noen spesiell rensing.

1.2.3 Lakseslakteri

På Jakobsneset er det anlagt et lakseslakteri som tar inn prosessvann på noe under 20 m dyp og slipper det ut på noe over 30 m dyp.

1.2.4 Kongekrabbe

I tillegg til industripåvirkning er det rapportert at Bøkfjorden kan være påvirket av forekomst av kongekrabbe (Oug et al. 2010). Der det er høy tetthet av kongekrabbe vil deres graveaktivitet og konsum av bunndyrene være et forstyrrende element som kan ha uheldige konsekvenser for annet dyreliv. Oug et al. 2010 refererer til undersøkelser som tyder på at store deler av bestanden av kongekrabbe i et område oppholder seg på bløtbunn på dypere vann (100-400 m) hvor krabbene beiter på tilgjengelige organismer. Ved næringsøk vandrer krabbene omkring og tar organismer på

bunnoverflaten samtidig som de graver aktivt i bunnsedimentet for å få tak i organismer som lever skjult under sedimentoverflaten. Sent på høsten og om våren vandrer kjønnsmodne krabber inn på grunnere vann (< 50 m) for parring og gyting. På grunnere vann spiser krabbene i stor grad organismer fra hardbunn, samt noe fiskeegg, men hovedmønsteret synes å være at det viktigste næringsgrunnlaget hentes fra bløtbunn på dypere vann.

Potensielt kan Bøkfjorden også tilføres partikler fra andre kilder enn SVG. Slike kilder er Pasvikelven (og andre ferskvannstilførsler) og primærproduksjonen. Dette er kilder som har sitt utgangspunkt i overflatelaget og betydning er sesongavhengig. I norske fjorder vil en eksempelvis om våren under snøsmelting kunne ha partikkelmengder som er langt høyere (5-10 mg/l) enn ellers i året.

1.3 Utgangspunkt for dosering i de gjennomførte giftighetstester

I giftighetstestene som er gjennomført med alger, børstemark, krepsdyr og fisk har en tatt utgangspunkt i en produksjon på 3mill. tonn i året og de konsentrasjoner som da nominellt vil kunne opptre i avgangen

I **Tabell 1** ser en at en slik produksjon vil gi 8,9 mg/kg med polyakrylamid i avgangen (tilsvarer 9.9 mg/kg med Magnafloc 10). Tilsvarende vil en få 2,7 mg/kg med polyDADMAC i avgangen (tilsvarer 6,75 mg/kg t.v med Magnafloc LT38).

Det er disse konsentrasjonene en har tatt utgangspunkt i ved gjennomføring av de ulike giftighetstestene. For å teste for situasjoner der en kan ha høyere verdier (sikkerhetsfaktor) har en også testet for 10 ganger denne konsentrasjonen for Magnafloc 10 (dvs. 67, 5 mg/kg t.v) og 100 ganger denne konsentrasjonen for Magnafloc LT38 (dvs. 675 mg/kg t.v.). Grunnen til at sikkerhetsfaktoren er høyere for Magnafloc LT38 enn for Magnafloc 10 er at Magnafloc 10 i hovedsak doseres etter en fast mengde og derfor ikke varierer så mye, mens Magnafloc LT38 doseres i forhold til endringer i deler av produksjonsapparatet som kan variere en del og i perioder gi høyere maksimalverdier relativt sett enn for Magnafloc 10 (se **Tabell 1**).

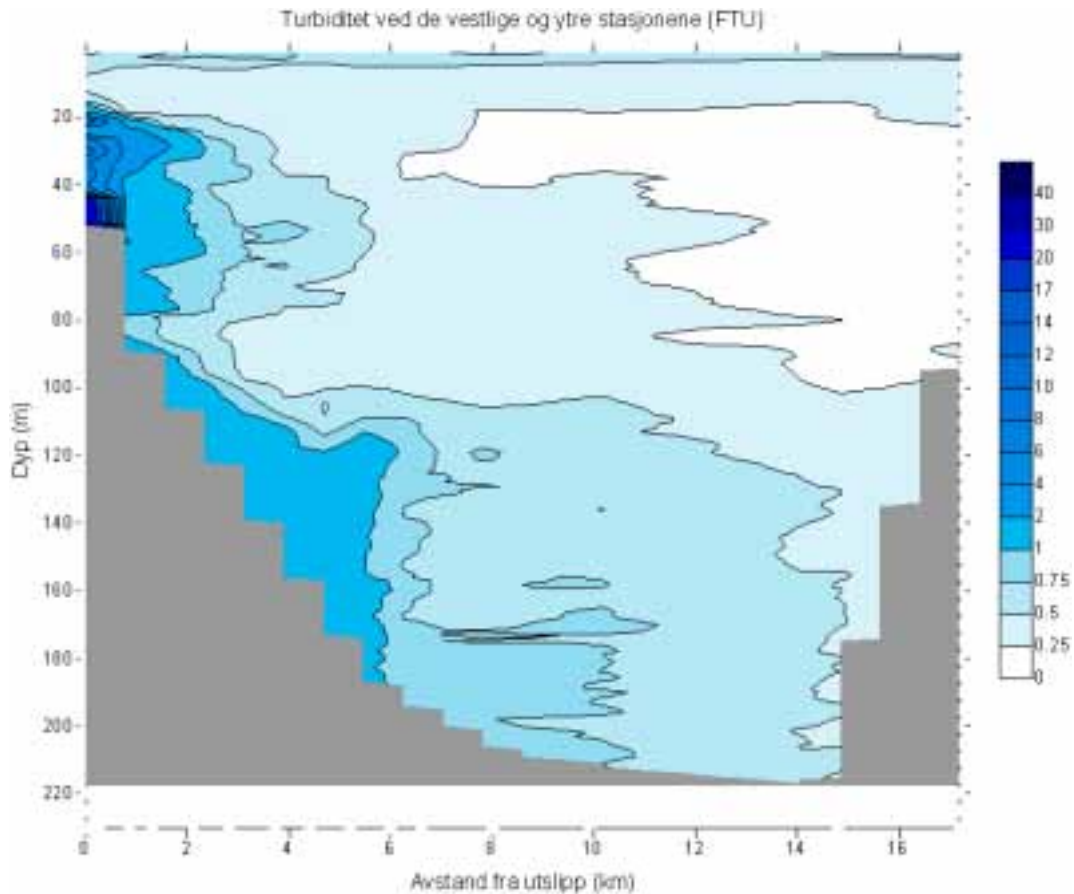
Tabell 1. Nominelt midlere innhold av virkestoff (polyakrylamid i Magnafloc 10 og polyDADMAC i Magnafloc LT38) i avgang ved en produksjon på 3 mill. tonn pr år.

Produktnavn	Nominell konsentrasjon av virkestoff i avgang ved en produksjon på 3 mill. tonn (mg/kg t.v.)	Antatt andel virkestoff i produkt (%)	Nominell konsentrasjon av produkt i avgang ved en produksjon på 3 mill. tonn (mg/kg t.v.)	Høyeste rapporterte enkeltkonsentrasjon av virkestoff (mg/kg t.v.)
Magnafloc 10	8,9 (Polyakrylamid)	90	9,9	18 (polyakrylamid)
Magnafloc LT38	2,7 (PolyDADMAC)	40	6,75	51 (PolyDADMAC)

2. Hydrografi og spredning av partikler kartlagt ved turbiditetsmålinger

Måling av turbiditet i vannmassen (ulike dyp) er en måte å beskrive hvor mye partikler som finnes i vannet, og ved gjentatte målinger på flere steder vil en få et bilde av hvordan partikkelskyen beveger seg fra utslippsrøret og hvor langt fra utslippspunktet skyen lar seg identifisere som forhøyede turbiditetsverdier. Ved undersøkelser i Bøkfjorden ved tidligere driftsperiode (Skei og Rygg 1989, Skei m.fl. 1995) har det blitt observert forhøyet partikkelinnhold i vannmassene i eller noe under utslippsdyp, hovedsakelig i 30-60 m dyp, men i ganske lave konsentrasjoner selv inne i Bøkfjorden (typisk 1-4 mg/l), og så vidt sporbart ut til området vest for Reinøy.

Turbiditetsmålinger gjennomført i Bøkfjorden i 2010 (se **Figur 3**) viste at turbiditeten var relativt lav i overflatelaget i hele fjorden og relativt lik det som ble observert på referanselokaliteten i Varangerfjorden (Berge et al 2011). Målingene tyder på at avgangspartiklene synker mer og mer ut av vannmassene over terskelnivå (dvs. ca. 100 m) dess lenger en kommer ut i fjorden. Ved avstand større enn 5,2 km fra utslippet ses ikke lenger noen tydelige turbiditetsmaksimum i de øvre 100 m og utslippets identitet viskes ut, men ved bunnen spres avgangene videre ut fjorden. Det ble antatt at en betydelig andel av avgangen havner innenfor Reinøy, men selv på stasjoner 8-10 km fra utslippspunktet ble det i større dyp enn ca. 100 m observert turbiditetsverdier over 0,5 FTU (antatt bakgrunnsverdi), noe som kan tyde på en viss avgangspåvirkning også der. De observerte partikkelmengdene i vannet var imidlertid i hovedsak lave i forhold til det som er kjent om grenseverdier for effekter på fisk og skjell (PNEC: 7,6 – 18 mg/l i følge Smit et al. 2008). Bedriftens normale utslippsdyp for avgang er 28 m. Turbiditetsmålingene som ble gjennomført i 2010 ble foretatt etter en lang periode med utslipp i ca. 50 m dyp. Dette kan ha påvirket målingene noe. Det var derfor viktig å få gjentatt målingene også i 2011.

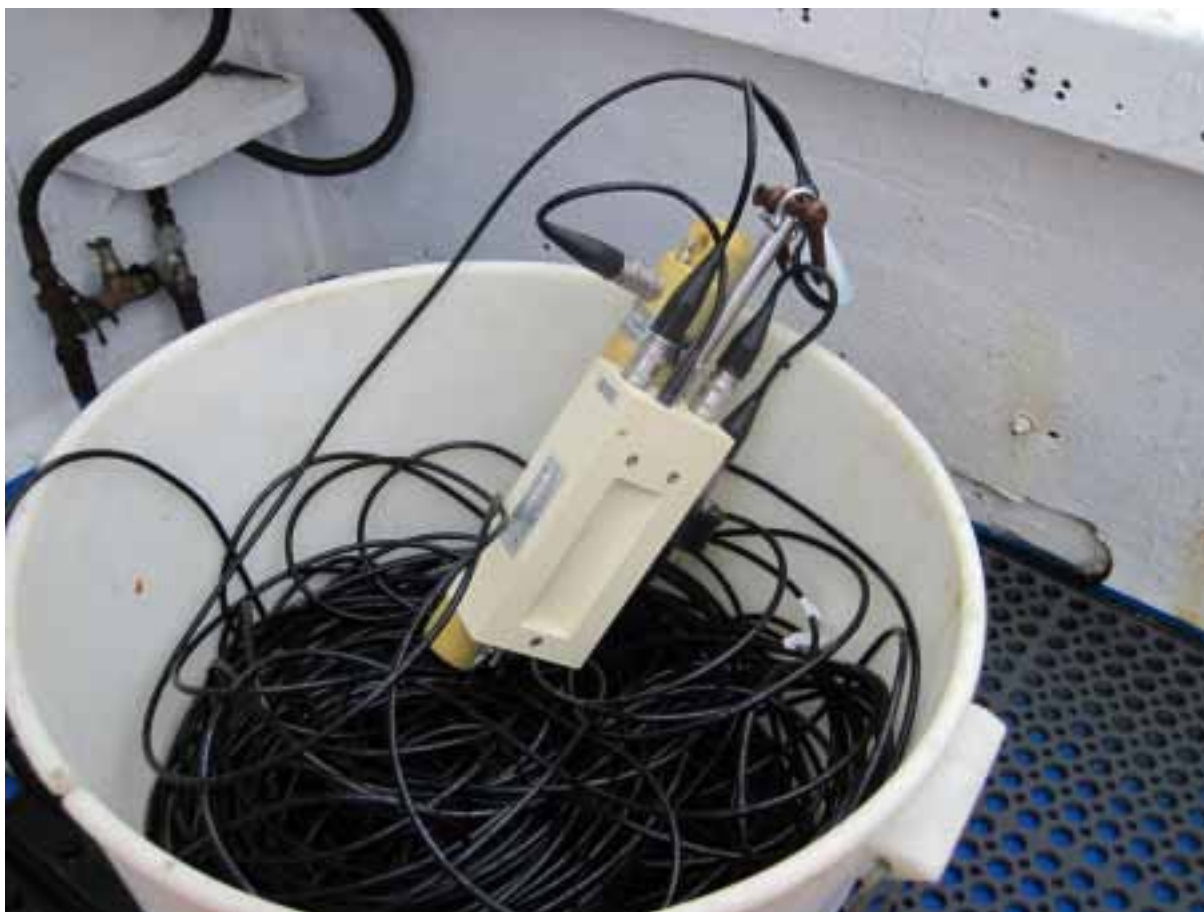


Figur 3. Horisontal og vertikal oversikt over turbiditeten i Bøkfjorden i målinger gjennomført i 2010 (Berge et al. 2011)

2.1 Metode

For å kartlegge spredning av finpartikler, både når det gjelder vertikal fordeling og størrelsen på spredningsområdet, har det blitt tatt kontinuerlige dybdeprofiler av turbiditet, som beskriver partikkelinnholdet i vannsøylen ved å måle sikten i vannet. Sammen med turbiditetsmålingene er det også blitt målt temperatur og saltholdighet, som brukes til å beregne tetthet. Det gir et bilde av lagdelingen av vannmassene, og har betydning for tolkning av turbiditetsdata. Observasjonene ble gjort ved hjelp av en sonde (SAIV STD, Model SD204, se **Figur 4**) som senkes ned i vannsøylen mens den måler og gir en tilnærmet kontinuerlig dyp-profil av salt, temperatur og turbiditet. Ved nedsenking av sonden ble det passet på at instrumentet ikke kom i kontakt med bunnen. Turbiditeten i de nederste anslagsvis 2-4 m ble derfor ikke registrert (enkelte steder også noe mer pga. sterk strøm).

Den anvendte sonden måler turbiditet med enheten FTU (Formazin Turbidity Units). Turbiditet gir et mål på vannets gjennomskinnelighet og dess høyere verdier, dess mer partikler er det i vannet. Grovt sett tilsvarer 1 FTU ca. 1 mg/L med partikler.



Figur 4. Sonde brukt til turbiditetsundersøkelsene i Bøkfjorden (Foto: John Arthur Berge)

2.1.1 Feltarbeid/målestasjonene

Selve feltarbeidet ble gjennomført i perioden 20.-22. september 2011 fra båten Ina Marita med skipper Bjørn Bye. Arbeidet ble utført John Arthur Berge og Bjørnar Beylich. Værforholdene under feltarbeidet var i hovedsak gode i forhold til det arbeidet som skulle gjøres. I utgangspunktet kan sterk vind by på problemer mht. å ligge stille med båt på hver enkelt stasjon. Registreringer fra Kirkenes lufthavn (se vedlegg, kapitel 12.4) viser at det under feltarbeidet var sydøstlig vind med vindstyrker fra 1,3-6 m/s og temperaturer mellom ca. 2 og 11 grader.

I **Figur 5** vises posisjoner hvor hydrografi og turbiditetsmålingene ble foretatt i 2011 (posisjoner og avstand fra utslippspunktet ses i vedlegg). Antall stasjoner er utvidet noe i forhold til undersøkelsene i 2010. Det tette stasjonsnettet i indre del av Bøkfjorden (se høyre del av **Figur 5**) er ment å gi en god romlig dekning av turbiditeten i fjordområdet nærmest utslippet. Stasjonene videre nordover er valgt for å følge partikkelmengdene i fjordområdet utover mot Varangerfjorden.

I tillegg til stasjonen besøkt i 2010 har en gjennomført målinger på en stasjon syd for Reinøya (merket T13b), en stasjon i Krossfjorden (merket TKros), en stasjon utenfor Jakobsneset (merket TL), to stasjoner nærmere Passvikselvens munning (merket TPN, TPS), to stasjoner ved Slambanken (merket TSN, TSS), to stasjoner i Langfjorden (merket TLN og TLS) og en stasjon i Kjelmøysundet (merket T22). Totalt utgjør dette 33 stasjoner for turbiditetsmålinger i 2011.



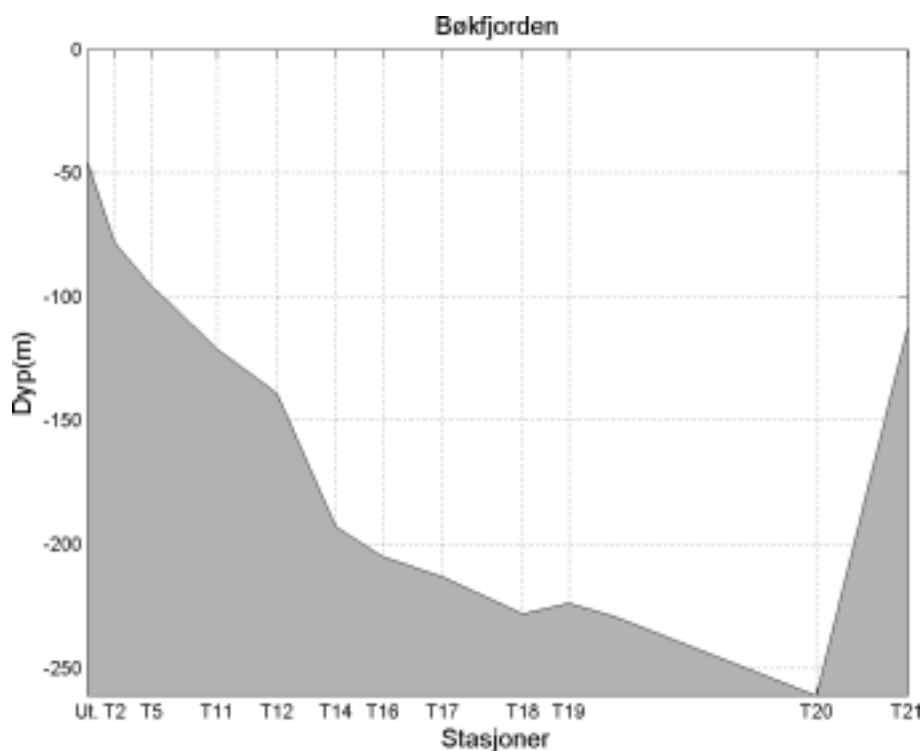
Figur 5 Oversikt over stasjonene for turbiditetsmålingene i Bøkfjorden 20.-22. september 2011. Noen stasjoner er merket i rød farge for å gjøre dem synligere.

For å lette forståelsen av resultatene er stasjonene inndelt i grupper (S-grupper) som utgjør ulike snitt i fjorden. Inndelingen er beskrevet i **Tabell 2**. S-grupper tilsvarer ulike snitt i fjordsystemet. Det skilles mellom snitt langs (L, i hovedsak i nord-syd retning) og på tvers av fjorden (X, i hovedsak i vest-øst retning). G-grupper inneholder diverse stasjoner. Gruppene S1L, S2L og S3L utgjør 3 snitt som alle starter ved utslipp og går nordover utover fjorden mot Leirpollneset, i henholdsvis vestre, sentrale og østre del av fjordområdet innenfor Reinøy. Gruppe S4L utgjør et snitt langs fjorden i den ytre delen fra Hælneset. Gruppene SX1, SX2, SX3 og SX4 tilsvarer snitt som i hovedsak er lagt på tvers av fjorden i ulik og økende avstand fra utslippspunkt. Gruppene G1 og G2 inneholder de andre stasjonene, i den ytre og indre delen av fjorden.

Tabell 2 Oversikt over gruppering av stasjonene

S1L	Snitt langs fjorden (foran utslipp, vest)	Utslipp, T1, T4, T7, T10, T12
S2L	Snitt langs fjorden (foran utslipp, sentral)	Utslipp, T2, TX, T5, T8, T11, T12
S3L	Snitt langs fjorden (foran utslipp, øst)	Utslipp, T3, T6, T9, T11, T12
S4L	Snitt langs fjorden (ytre)	T12, T14, T15, T16, T17, T18, T19, T20, T21
S1X	Snitt på tvers av fjorden (0,3-1,5km fra utslippet)	T1, T2, T3
S2X	Snitt på tvers av fjorden (ca. 1,3-2,1 km fra utslippet)	T4, T5, T6
S3X	Snitt på tvers av fjorden (2,1-2,5 km fra utslippet)	T7, T8, T9
S4X	Snitt på tvers av fjorden (2,8-3 km fra utslippet)	T10, T11
G1	Gruppe av forskjellige stasjoner (ytre)	T22, Tkros, T13, T13b, Trø
G2	Gruppe av forskjellige stasjoner (indre, vest)	TSN, TSS, TLN, TLS
G3	Gruppe av forskjellige stasjoner (indre, øst)	TPS, TPN, TL

Topografien for de sentrale stasjonene i Bøkfjorden fra utslippet og ut til Varangerfjorden er vist i **Figur 6** hvor de omtrentlige stasjonsplasseringene også er vist. I Bøkfjorden er det ingen markert terskel før en kommer ut til stasjon T21. I dette området grunner fjorden opp i en terskel på ca. 100 m som begrenser vannutskiftningen mellom de dypere delene av Bøkfjorden og Varangerfjorden utenfor. Dette betyr at partikler som synker dypere enn 100 m før de når ut til terskelen i hovedsak forblir inne i Bøkfjorden.



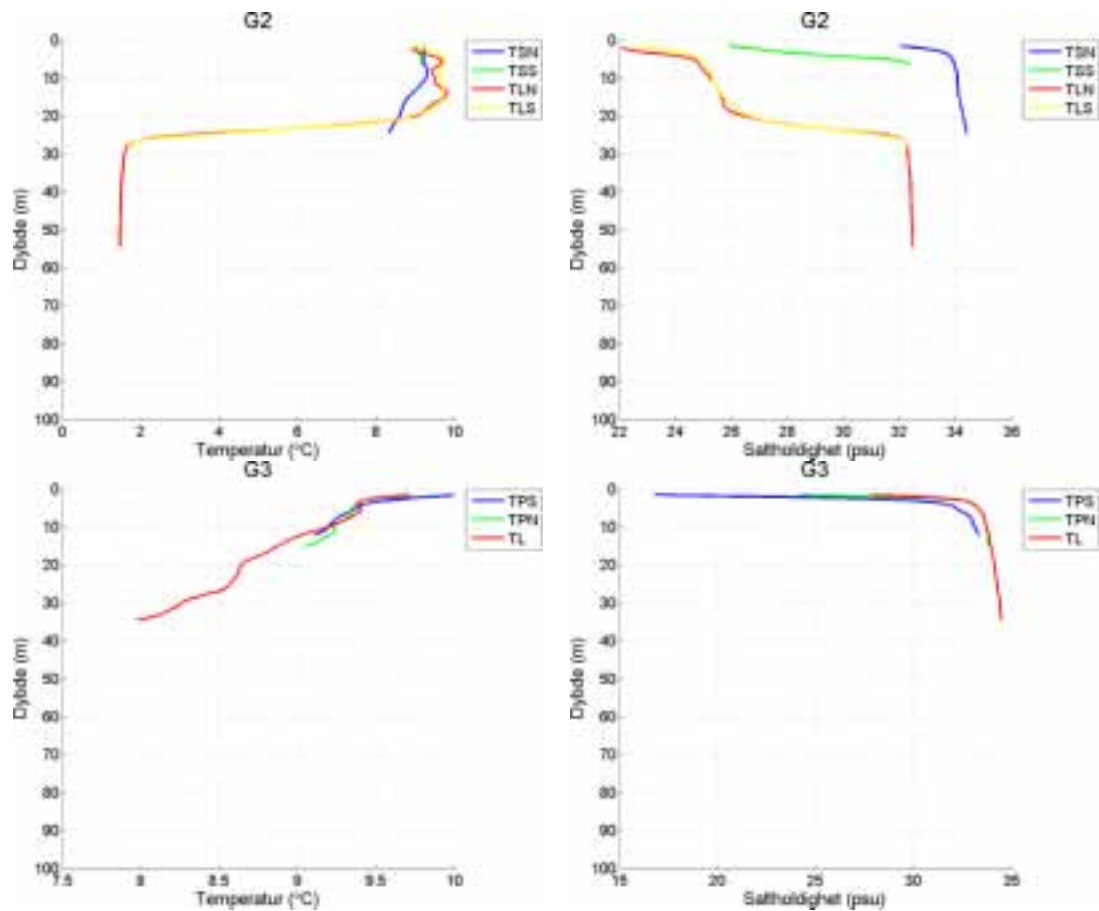
Figur 6 Dybdesnitt i sentrale deler av Bøkfjorden fra utslippspunktet ved Kirkenes (venstre) til Varangerfjorden (høyre). Turbiditetsstasjoner langs dybdesnittet er inntegnet

Figurene av turbiditet som vises i rapporten er basert på data som er lett filtrert. Dette gjør figurene lettere å fortolke. Som ved alle filtreringsprosesser, betyr dette at figurene ikke viser de eksakte måledata. En må regne at verdier som er presentert kan variere med noen få prosenter i forhold til originaldata. Figurene viser imidlertid de variasjoner som er observert og påvirker ikke tolking av målingene.

2.1 Resultater

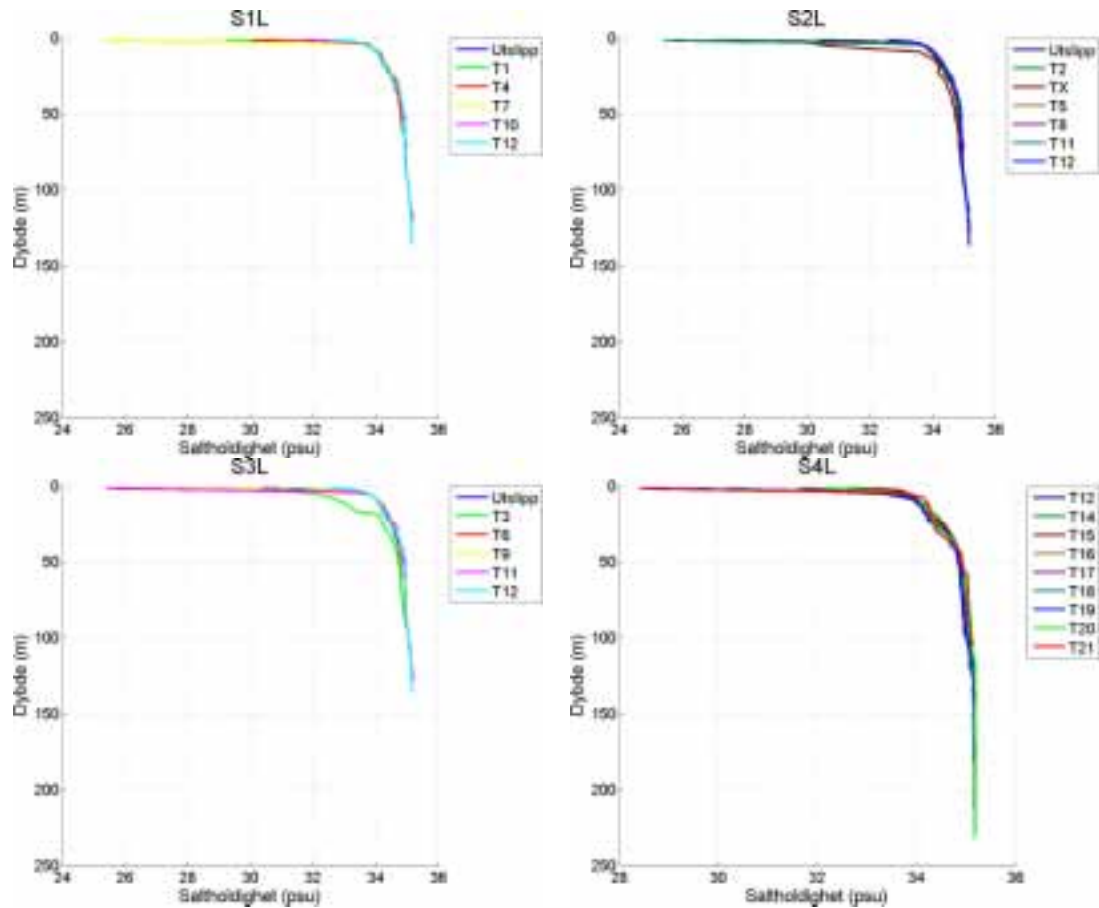
2.1.1 Hydrografi

Innerst i Bøkfjorden på den østlige siden av Kirkenes renner Pasvikelven ut med en middelvannføring på $180 \text{ m}^3/\text{s}$.



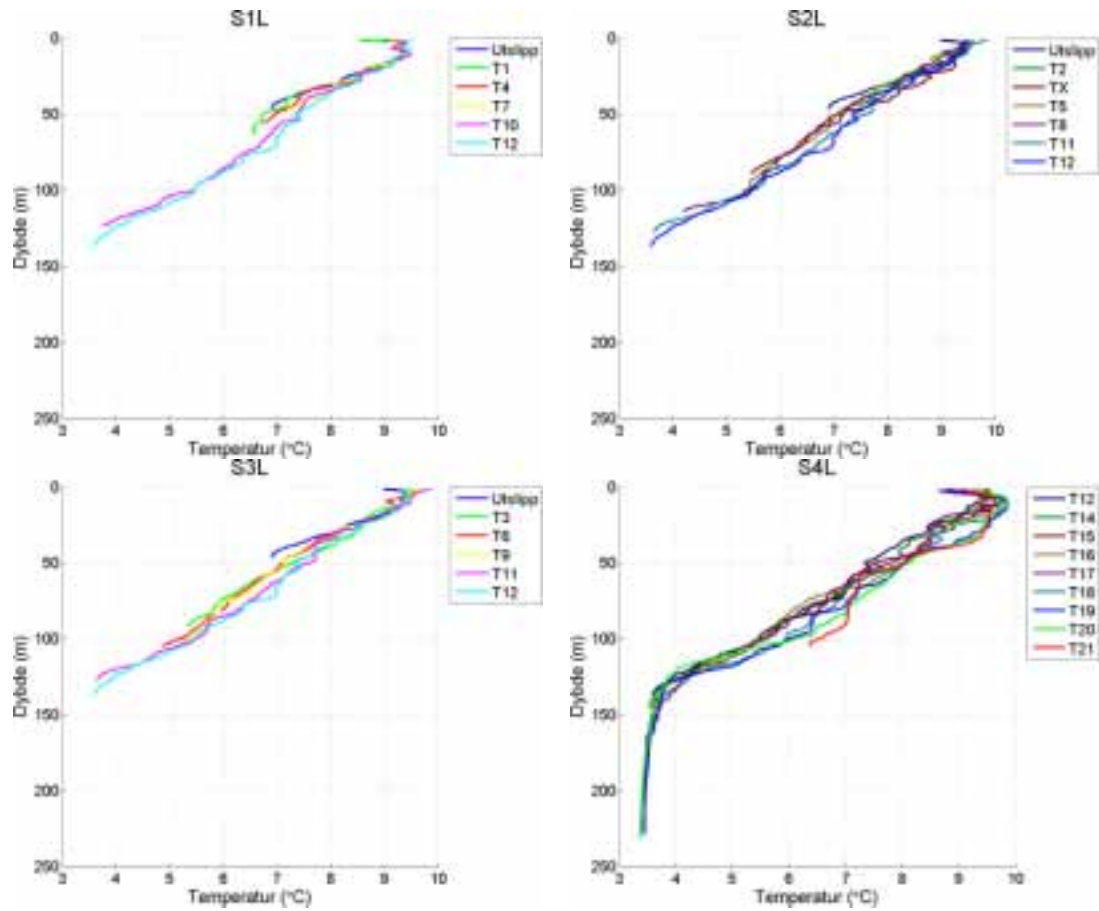
Figur 7. Temperatur- og saltholdighetsprofilene for de indre stasjonene, på vest (opp) og øst (ned) side av utslippspunktet.

I **Figur 7** vises saltholdighetsprofilene for stasjoner som er tatt i indre delen (gruppe G2 og G3). I det øverste vannlaget, er det mye ferskvann og sterk sjiktning ved ca. 2-3 m dyp. Temperatur minsker gradvis nedover fra ca. 9-10 °C på overflaten mot bunn. Innerst i Bøkfjorden på den sydvestlige siden av Kirkenes er det en sterk tidevannsstrøm (Storstraumen) som transporterer vann mellom Langfjorden og Bøkfjorden gjennom en trang innsnevring ved Strømmen bru. Stasjonene TLN og TLS inne i Langfjorden skiller seg godt fra de andre stasjonene med et mye tykkere brakkvannslag (lav saltholdighet) som strekker seg helt ned til ca. 20 m. Dette er også veldig tydelig på temperaturprofilene. Bunnvannet i Langfjorden er også vesentlig kaldere enn ved tilsvarende dyp utenfor. De topografiske forholdene i Langfjorden med en grunn og smal forbindelse til fjordområdet utenfor gjør at vannmassene i de dypere deler er delvis isolert fra området utenfor (se Bjerkeng 1999). Det tykke brakkvannslaget tyder også på en betydelig påvirkning fra ferskvann i dette området.



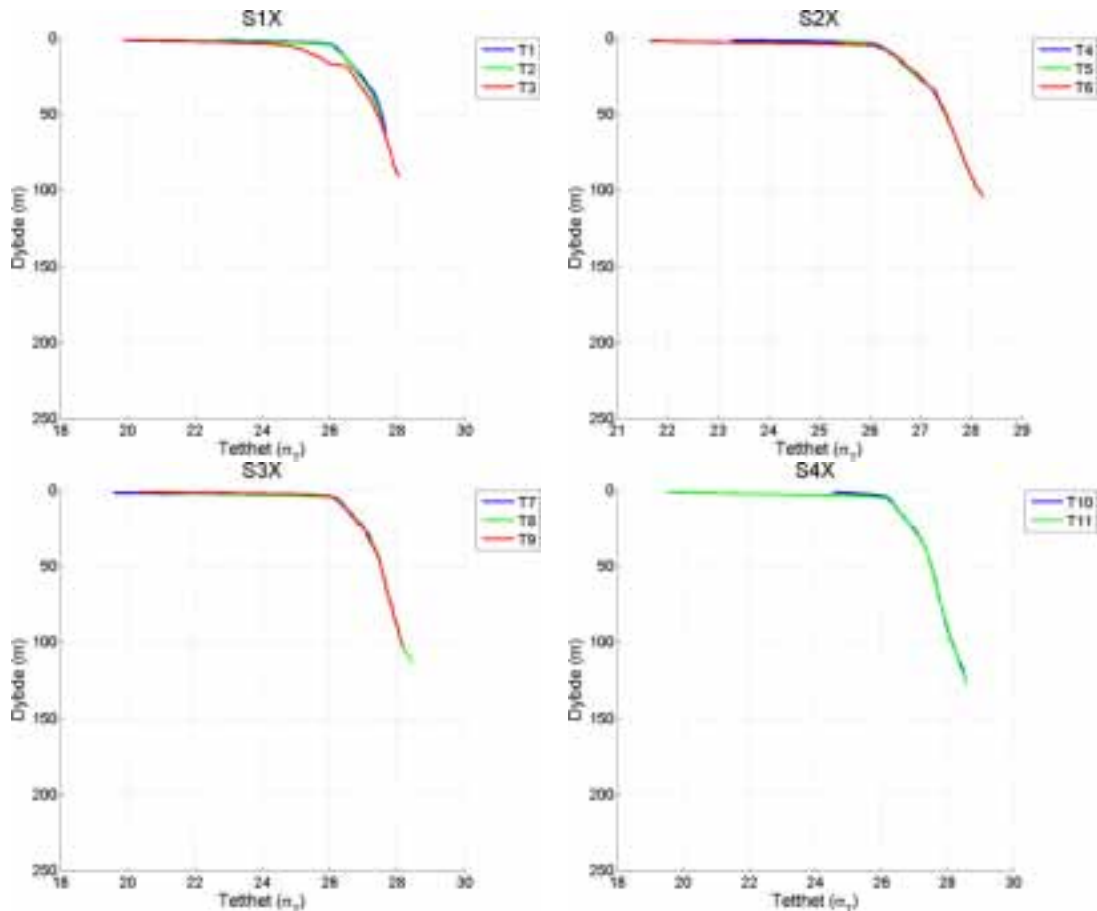
Figur 8. Saltholdighetsprofiler for stasjonene fra utslipp og utover.

I **Figur 8** og **Figur 9** vises saltholdighets- og temperaturprofilene for stasjonene mellom utslippspunktet og ytre delen av fjorden. Saltholdighetsprofilene viser samme egenskaper som for stasjonene TSN og TPN: et tynt overflatelag ca. 3 m tykk med ferskere vann og sterk sjikting. Det er en liten forskjell for stasjonene T3 og TX som viser noe lavere saltholdighet ned til ca. 15 m og 8 m. Forskjellen skyldes en ferskvannspåvirkning. Som forklaring er det mest naturlig å tenke på Pasvikelven, men ut fra elvens relativt dominerende rolle mht. ferskvannstilførsel skulle en anta at nærliggende stasjoner også ville ha vist samme profil. Årsaken til den avvikende saltholdighetsprofilen på T3 og TX er derfor usikker. Denne forskjell er heller ikke synlig i temperaturprofilene.



Figur 9. Temperaturprofiler for stasjonene fra utslipp og utover.

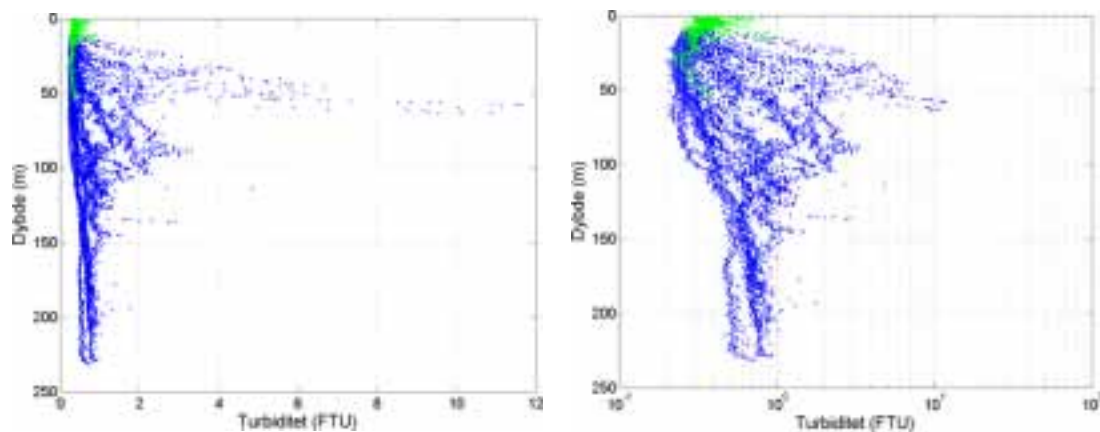
Tetthetsprofiler for de stasjonene foran utslippspunktet (**Figur 10**) viser at saltholdighet er den viktigste faktoren for tettheten. Stasjon T3 skiller seg derfor ut igjen fra de andre stasjonene. Profilene i figuren er gruppert i seksjoner på tvers av fjorden. Generelt sett er det ikke mulig å si med sikkerhet om sjikting er noe sterkere på den ene eller andre side av fjorden.



Figur 10. Tetthetsprofiler for stasjonene foran utslippspunktet.

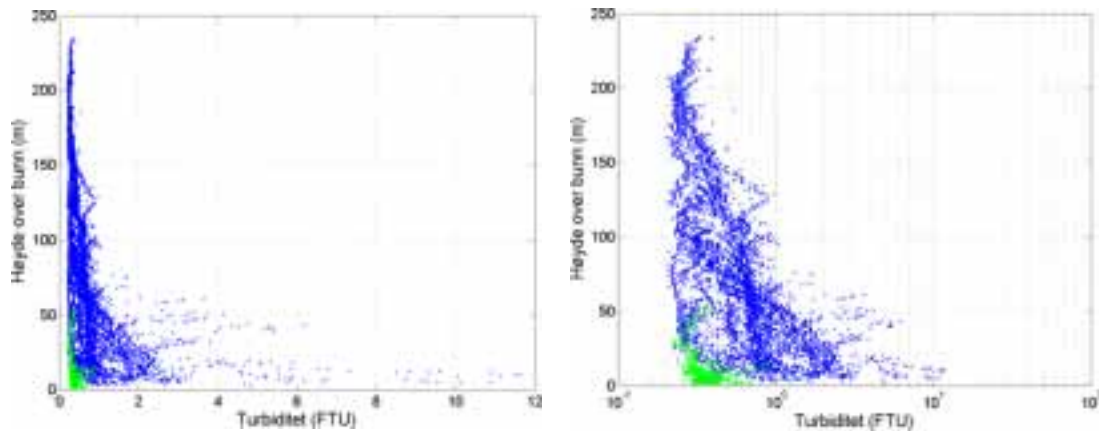
2.1.2 Turbiditet

For å få en oversikt over turbiditetsdataene har en i **Figur 11** plottet turbiditeten ved alle stasjonene mot dypet. I det ene plottet (høyre) har en brukt logaritmisk skala for turbiditet. Punktene markert med grønt tilsvarende målinger som har en saltholdighet lavere enn 34,0 psu. Ut i fra denne figuren ser man et turbiditetsminimum ved 25 m dyp med en verdi på ca. 0,25 FTU. Turbiditeten øker mot overflate der den når ca. 0,35 FTU. Det er også en gradvis økning mot større dybde. På største dyp er turbiditet i underkant av 1 FTU. I tillegg ser man tydelig høyere verdi ved 50 m og 90 m der turbiditet når 10 og 3 FTU. Høyeste verdi finnes i sjikt med høy saltholdighet, altså nederste lag. Økning mot overflaten kan skyldes Pasvikelven som er hovedkilden for ferskvannstransport.



Figur 11. Turbiditet plottet mot dybde for alle stasjonene (blå: saltholdighet > 34,0, grønn saltholdighet <34,0). Figur til høyre har en logaritmisk skala for turbiditet.

Figur 12 viser det samme som i **Figur 11**, men turbiditet er plottet mot høyde over bunn. En ser at turbiditet i ferskere vann finnes særlig over grunnområder. Høyeste turbiditetsverdi er også lokalisert ved bunn. Det er en klar tendens til at turbiditet er høyere i de nederste 50 m over bunn.

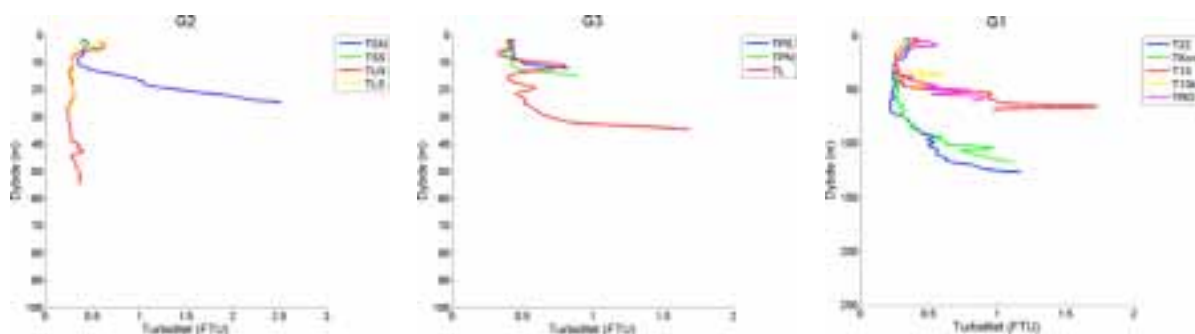


Figur 12. Turbiditet plottet mot høyde over bunn for alle stasjonene (blå: saltholdighet > 34.0, grønn saltholdighet <34.0). Figur til høyre har en logaritmisk skala for turbiditet.

I **Figur 13** vises turbiditetsprofiler for stasjonene som ligger i de innerste deler av fjordsystemet (G2 og G3) eller noe på siden av hovedsnittet mot Varangerfjorden (G1). For de indre stasjonene (**Figur 13** venstre side), finner man noe høye turbiditetsverdier (2,5 FTU) nær bunnen ved stasjon TSN (ca. 1,6 km fra utslippspunktet til SVG) nordøst for sandbanken hvor det ved tidligere drift er deponert avgang, og som i dag kan ses som en strandbanke som når helt opp i fjæra. Det er usikkert i hvilken grad noe av denne avgangen transporteres med strømmen. Siden høye turbiditetsverdier bare observeres i de dypere vannlag, kan det tyde på at transporten av partikler fra de grunnere deler av sandbanken er beskjeden. Man kan imidlertid ikke se bort fra en mulig påvirkning fra avgang fra de dypere områdene og eventuelt også fra dagens utslipp. Inne i Langfjorden (TLN, TLS) er det lave turbiditetsverdier (< 0,5 FTU) med unntak av helt i overflaten. På den østlige siden (G3) ved utløpet av Pasvikelva (TPN, TPS), viser turbiditet en lignende profil som ved TSN, dvs. med noe høyere turbiditetsverdier nær bunnen, men turbiditeten kommer likevel ikke høyere enn ca. 0,9 FTU (ved bunnen på 10-15 m dyp). Dette ses også på stasjon TL i samme dybde (ca. 10-12 m). Økningen i turbiditet i 10-15 m dyp på stasjon TL har trolig ikke sammenheng med utslippene fra SVG fordi utslippet ikke innlagres så nær overflaten (se **Figur 14**), men kan være forårsaket av partikler som kommer fra samme dyp nærmere Pasvikselvens munning (TPN, TPS). En annen mulighet er at turbiditetstoppen i 10-15 m dyp på stasjonen TL (se **Figur 13**) skyldes utslipp av prosessvann fra annen næringsvirksomhet som ligger i nærheten. Stasjon TL viser i tillegg en femdobling av turbiditetsverdier i nærheten av bunn (35 m). Det antas imidlertid at denne økningen kan være forårsaket av utslipp fra SVG

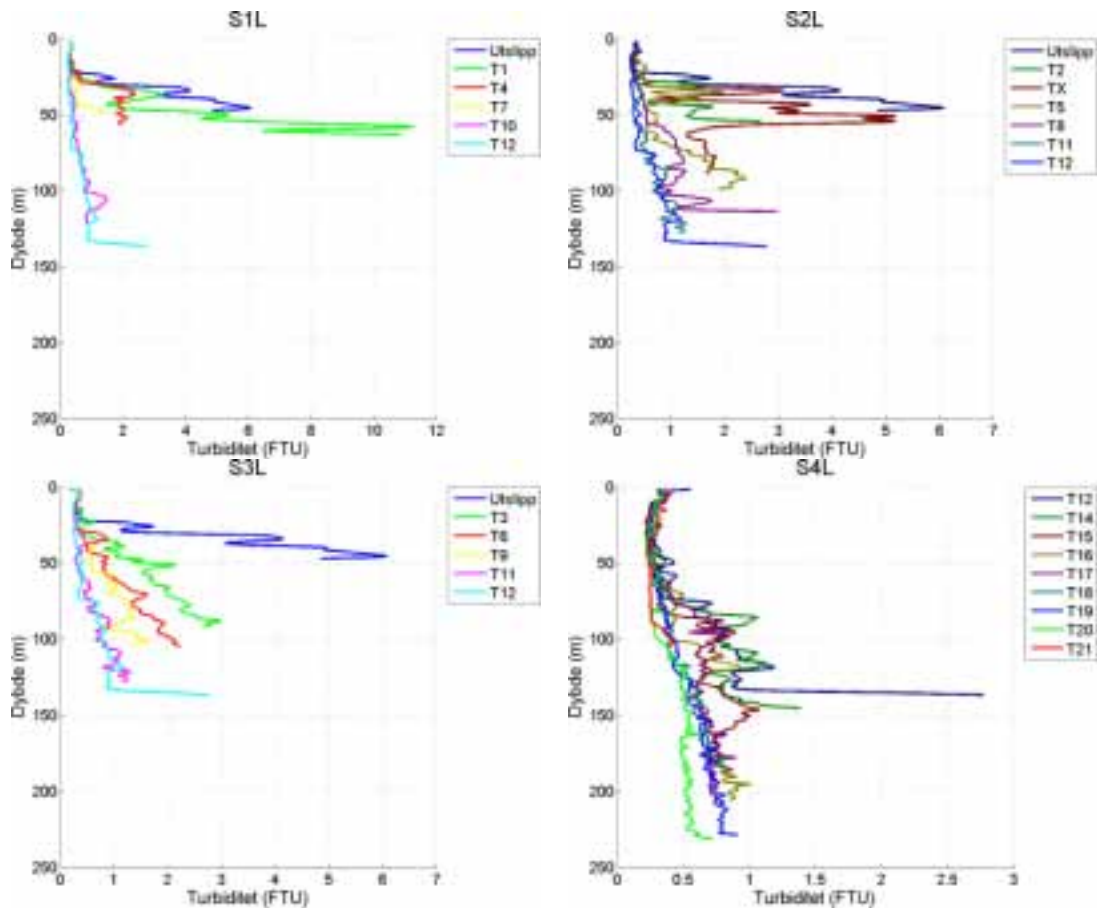
I de ytre delene av Fjordsystemet (T22, Tkros) (se **Figur 13**), er det relativt lav turbiditet i vannsøylen og økende verdi i nærheten av bunn.

Stasjon T13 (innenfor Reinøy) har litt høyere verdier i de dypere deler av vannmassen enn T22 og Tkros som ligger godt utenfor Reinøy, og likner også nabostasjon T13b ved Ropelv og til dels også stasjonen TRO nord i Reinøysundet (se **Figur 14**).



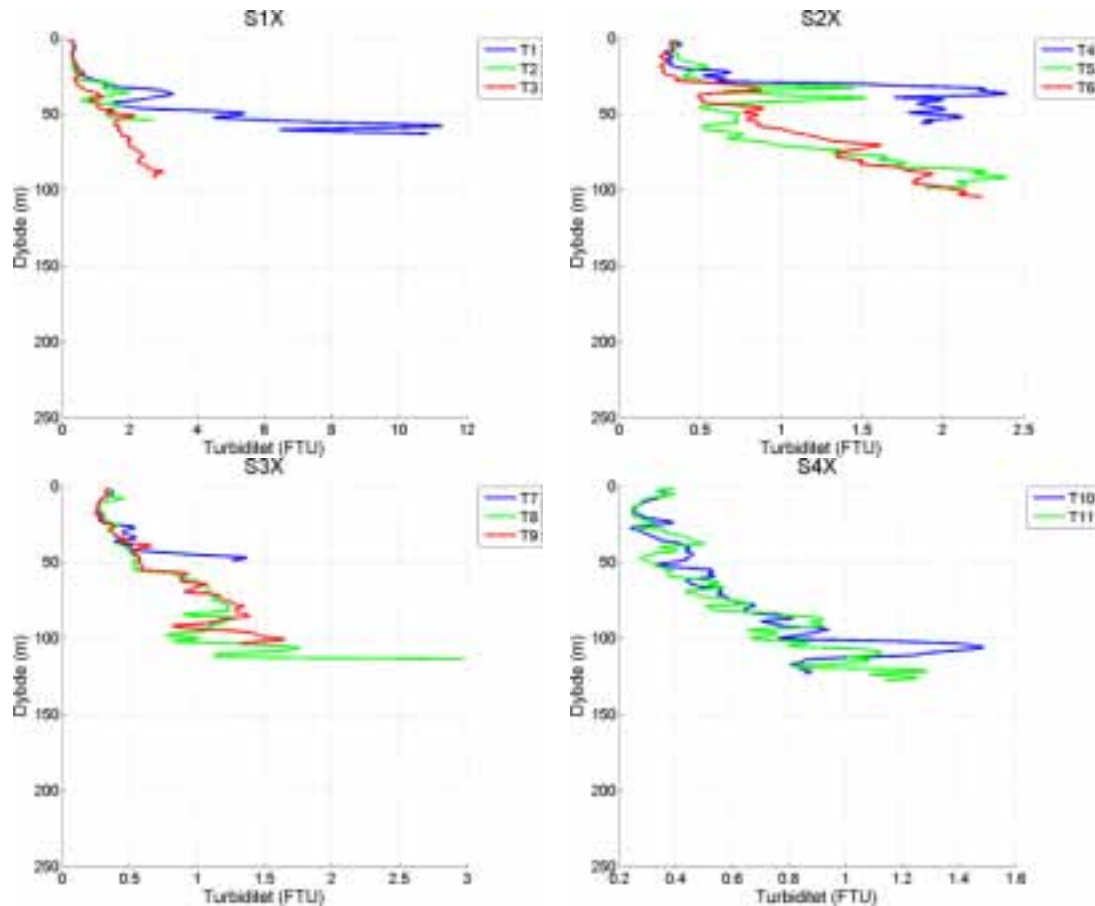
Figur 13. Turbiditetsprofiler for indre og utenforliggende stasjoner (fra venstre: indre vestlige, indre østlige og ytre stasjonene).

I **Figur 14** vises turbiditetsprofiler for de stasjonene som ligger fra utslippet og utover i fjorden, i hovedsak i nordlig retning. En ser tydelig at de høyeste verdier observeres nær utslippet og på T1 og TX. Nærmest utslippet er det relativt lav turbiditet i de øverste 20 m med en klar økning ned til et maksimum på ca. 6 FTU i 50 m dyp. Turbiditeten avtar tydelig med avstand fra utslippspunktet i området innenfor Reinøya (Se S1L, S2L og S3L i **Figur 14**). En ser også at dybden hvor en observerer høyest turbiditet øker med avstand fra utslippspunktet (Se S1L, S2L og S3L i **Figur 14**). Dette tyder på at partiklene i utslippet synker nokså raskt mot bunn. Turbiditetsprofilene fra stasjonen utenfor Reinøya (S4L i **Figur 14**) viser i hovedsak svært lave verdier (<0.5 FTU) ned til ca. 100 m, men med svakt økende verdier ned mot bunnen.



Figur 14 Turbiditetsprofiler langs fjorden, for stasjonene foran utslippspunktet, og de ytre stasjonene.

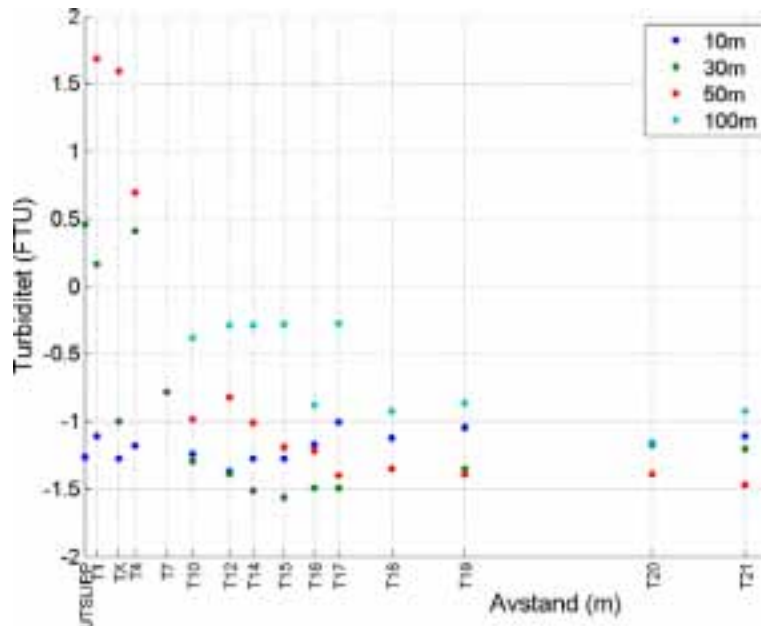
I **Figur 15** er profilene gruppert i snitt som krysser fjorden i ulik avstand fra utslippet. **Figur 15** viser tydelig at partikler i området innenfor Leirpollneset er mer konsentrert i vestre enn i østre del av fjorden og at forskjellen minsker med avstand fra utslippspunktet.



Figur 15 Turbiditetsprofiler på tvers av fjorden, for stasjonene foran utslippspunktet.

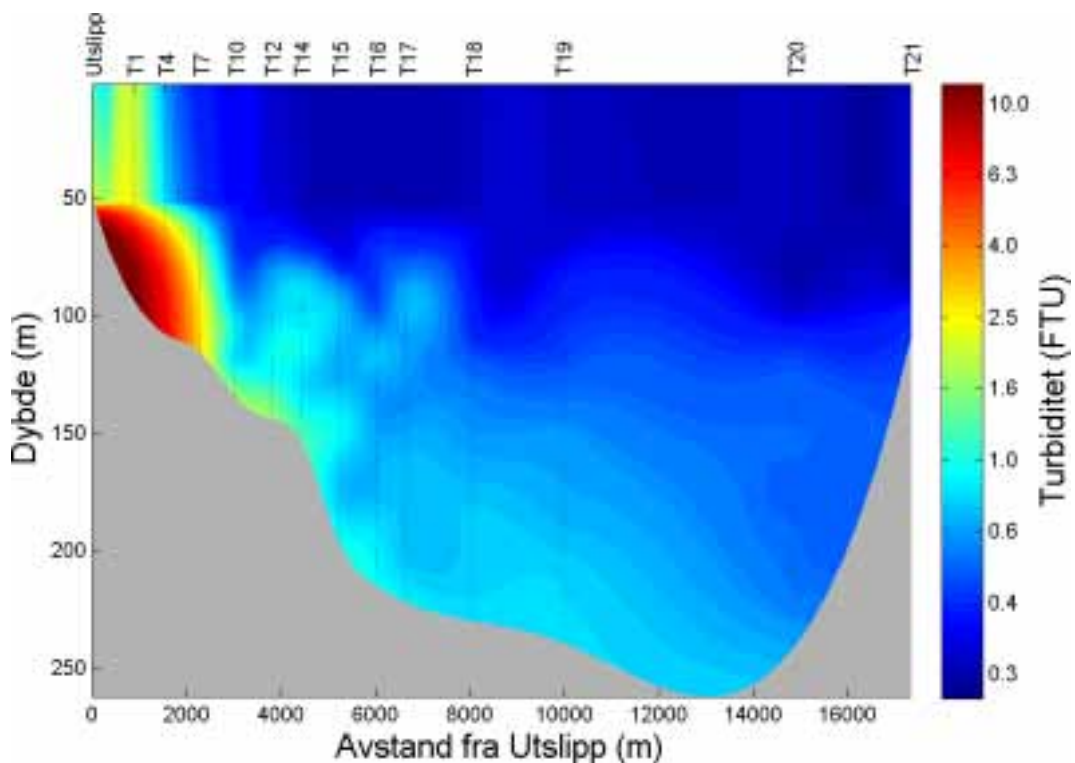
I **Figur 16** presenteres turbiditet målt ved 10 m, 30 m, 50 m og 100 m dyp langs et snitt i fjorden fra utslippspunktet mot ytterste stasjon. Stasjonene som er valgt i snittet ligger i den vestlige delen av fjorden siden det er dette området hvor det ble målt de høyeste turbiditetsverdier. Omtrentlig posisjon for de stasjonene er også vist langs horisontalaksen. Verdi for turbiditet er skalert med $\log_e(x)$. Største nedgang i turbiditet observeres i 50 m dyp mellom stasjon T1 (250 m fra utslippet) og T10 (2,8 km fra utslippet). Også i 30 m dyp ses en klar turbiditetsnedgang fra utslippet til T10. Deretter kan man i 30 m dyp se en ytterligere nedgang mellom stasjonene T17 og T18 (18 km fra utslippet).

I 10 m dyp er det relativt lave turbiditetsverdier i hele fjordsystemet. Tilsvarende ses også i hovedsak i 30 m dyp på stasjoner utenfor Leirpollneset og i 50 m dyp nord for T16 vest av Reinøy. I utslippspunktets nærområde (T1, TX T4) ble de høyeste verdier registrert i 50 m med en kraftig nedgang mellom T4 (1,4 km fra utslippet) og T10 (2,8 km fra utslippet). Lenger ut i fjorden observeres de høyeste verdier ved 100 m dyp, men verdiene er likevel lave (<0.5 FTU).



Figur 16 Turbiditetsmålinger ved 10 m, 30 m, 50 m og 100 m langs vestre del av fjorden, fra utslippspunktet mot ytterste stasjon. Merk at turbiditet er skalert med $\log_e(x)$.

For lettere å kunne se hvordan partiklene beveger seg horisontalt og vertikalt er hovedmengden av data sammenstilt i **Figur 17**. Figuren viser den horisontale og vertikale fordeling av turbiditet langs det sentrale snitt ut fjorden. Her kan en se hvordan partiklene fordeler seg utover i Bøkfjorden. Figuren er fremkommet ved interpolering av dataene og må benyttes med en viss forsiktighet. For eksempel er den vertikale stripen med høyere turbiditet ved stasjon T1 trolig ikke reell. Likevel gir figuren et kvantitativt bilde av partiklers fordeling langs fjorden. Figuren ble laget med stasjonene fra den vestre delen av fjorden, siden det var der det ble målt høyeste turbiditetsverdi.



Figur 17 Horisontal og vertikal oversikt over turbiditeten i Bøkfjorden (vær oppmerksom på at fargeskala er logaritmisk).

Figur 17 bekrefter våre observasjoner. Den høyeste partikkelkonsentrasjon finnes ved utslippspunktet, ved ca. 50 m dyp. En stor andel faller nokså tidlig mot bunn slik at man oppnår nesten en naturlig tilstand etter stasjon T11 (ca. 3 km fra utslippet). Med naturlig tilstand mener vi at turbiditetsprofilen likner de fleste stasjonene som er plassert langt fra utslippspunktet. Det kan se ut som det kan være noe oppvirvling ved stasjonene T14 (vest av Reinøy), muligens også ved T17. Dette kan muligens være forårsaket av lokale tidevannsdrevne strømforhold. **Figur 17** viser imidlertid klart hvordan partiklene synker mot bunnen ettersom en kommer utover i fjordsystemet. Dette ble også observert i undersøkelsen i 2010 (Berge et al. 2011). Undersøkelsene fra 2010 kunne imidlertid tyde på at avgangen i utslippets nærområde spredte seg noe høyere opp i vannsøylen enn i 2011. I 2010 ble det også observert et turbiditetsmaksimum nær overflaten i hele fjordsystemet (muligens tegn på en viss primærproduksjon), mens noe tilsvarende ikke ble observert i 2011.

2.2 Konklusjoner

Turbiditetsmålingene fra 2011 gir et bilde av partikkelspredningen i fjorden som i grove trekk ligner mye på det en observerte i 2010. En sterk ferskvannspåvirkning ses i overflatelaget i hele Bøkfjorden med en sterk sjikting. Spranget ligger ved ca. 3 m dyp. Under dette brakkvannslaget er saltholdighet relativt lik (ca. 34-35) helt ned til bunn hvor den i de dypeste områder er ca. 35.2 PSU. Også ved tidligere undersøkelser er det observert et karakteristisk tynt brakkvannslag i Bøkfjorden med lite blanding mellom ferskvann og saltvann dypere ned (Skei et al 1995, Berge et al 2011).

I Langfjorden er brakkvannslaget betydelig tykkere enn i Bøkfjorden. Det ble ikke påvist noen tydelig transport av partikler fra grunnområdene ved Slambanken til nærliggende stasjoner.

I motsetning til i undersøkelsen i 2010 (Berge et al 2011), er det ikke mulig å si med sikkerhet om det er forskjell i sjikting på den østre eller vestre del av fjorden. Derimot er det klart at partikkelkonsentrasjon er høyere i vestre del av fjorden enn i østre del, i alle fall ut til ca. 3 km fra utslippet. Tilsvarende ble også observert i 2010.

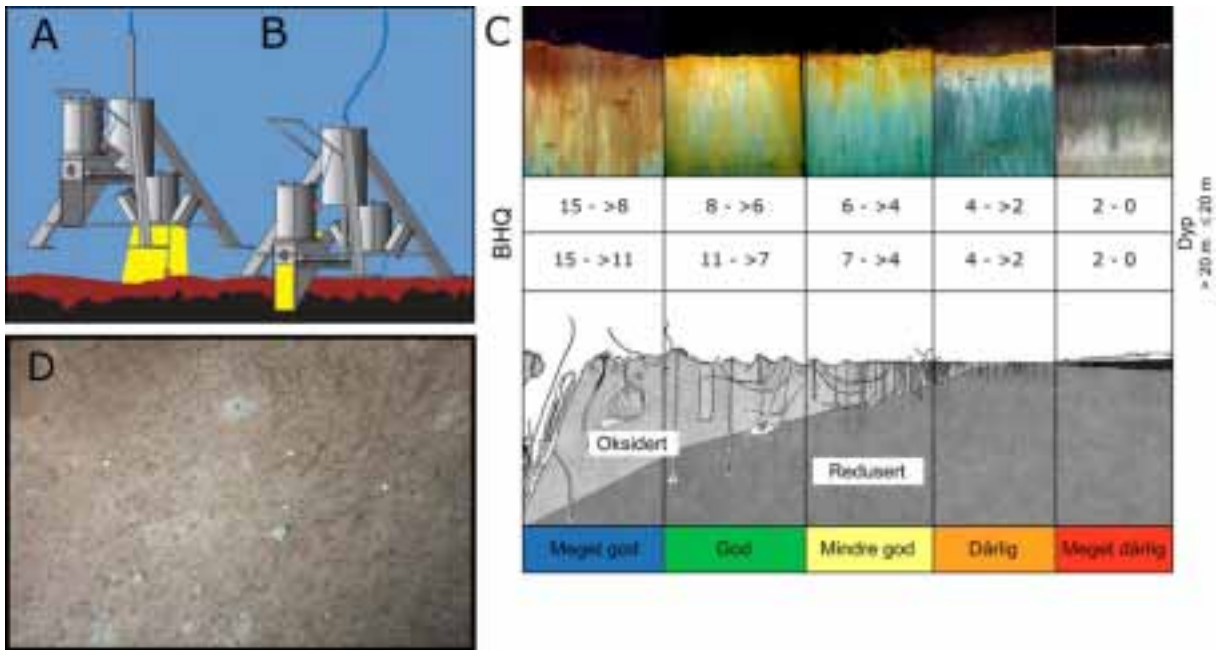
Den høyeste turbiditeten ble observert ved utslippspunktet (10-12 FTU). Resultatene av turbiditetsmålingene fra begge år tyder imidlertid på at det meste sedimenteres innenfor de nærmeste 6 km (omtrent til Reinøy). Typiske maksimalverdier for turbiditet utenfor Reinøya ligger rundt 1 FTU nær bunnen og mindre enn 0,5 FTU i de øvre 50 m (dvs. på bakgrunnsnivå). Det ble i 2011 observert en antydning til oppvirvling i områder nær Reinøya begrenset til 100 m over bunnen muligens pga. lokale strømforhold ved Reinøy.

På noen stasjoner innerst i fjorden øker turbiditeten i den nederste del av vannsøylen (eksempelvis TL, TSN, se **Figur 13**). Fordi det ikke er noen tydelig partikkeltransport i det øverste ferskvannslag er det en mulighet for at disse partiklene stammer fra utslippet til SVG, men også i fjorder uten partikkelutslipp kan det forekomme en økning i turbiditet mot bunnen. På andre stasjoner nær utslippet (eksempelvis T1) er det mer åpenbart at den høye turbiditeten nær bunnen skyldes utslippene fra SVG. Lenger ute i fjorden (eksempelvis ved T22, **Figur 13**) er det også målt økende turbiditet mot bunnen. Trolig har dette naturlige årsaker. Som nevnt vil det også i fjorder uten partikkelutslipp kunne forekomme en økning i turbiditet mot bunnen. I den ytre del av Bøkfjorden antydes en økt turbiditet ved bunnen i alle fall ut til T16 (ca. 6 km fra utslippet). Tykkelsen på dette laget er i størrelsesorden 50-150 m (**Figur 17**) og er vesentlig tykkere enn det en normalt ser i fjorder uten partikkelutslipp. Dette tyder på at turbiditeten i dette vannvolumet er forårsaket av andre forhold enn naturlige prosesser ved bunnen. Lenger ut antydes også et bunnlag på størrelsesorden 100 m med svakt forhøyet turbiditet. Tykkelsen på bunnlaget antyder at en også her har en svak påvirkning fra gruvedriften, men ved turbiditetsverdier på mindre enn 1 FTU begynner man å nærme seg det som må oppfattes som bakgrunnsverdi slik at påvirkningen trolig er marginal. I **Figur 17** ser en imidlertid at terskelen på ca. 100 m dyp ca. 17 km fra utslippet virker som en barriere mot videre transport av partikler ut i Varangerfjorden.

3. Sedimentprofilfotografering (SPI)

3.1 Metode

Sedimentprofilfotografering (SPI) er en rask metode for visuell kartlegging og klassifisering av sediment og bløtbunnfauna. Teknikken kan sammenlignes med et omvendt periskop som ser horisontalt inn i de øverste dm av sedimentet. Bildet som blir 17,3 cm bredt og 26 cm høyt, tas nede i sedimentet uten å forstyrre strukturer i sedimentet. Et digitalt kamera med blits er montert i et vanntett hus på en rigg med tre ben (**Figur 18**). Denne senkes ned til sedimentoverflaten slik at en vertikal glassplate presses ca. 20 cm ned i sedimentet. Bildet tas gjennom glassplaten via et skråstilt speil som til sammen utgjør et prisme. Resultatet er digitale fotografier med detaljer både av strukturer og farger av overflatesedimentet. På riggen er det montert et overflatekamera som tar et bilde ($\approx 1/4\text{m}^2$) av sedimentoverflaten rett før riggen når bunnen.



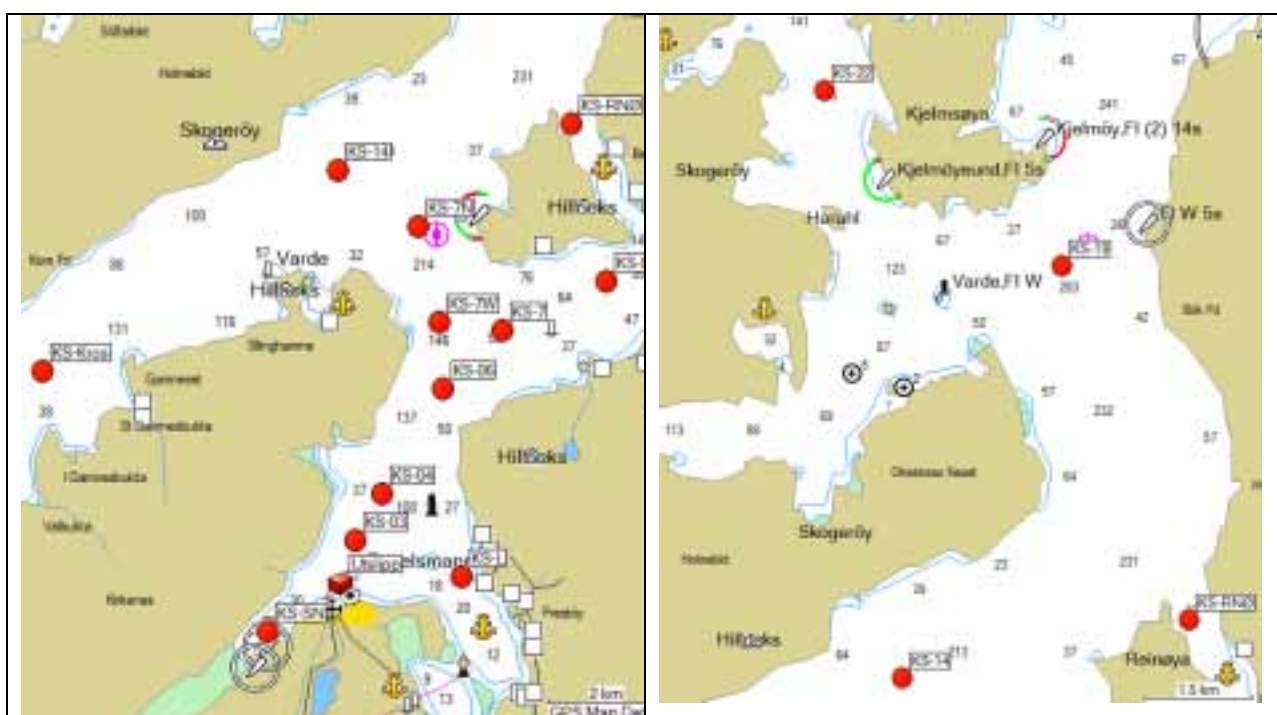
Figur 18 Prinsippskisse for SPI-kamera og bildeanalyse. (A) Rigg over bunnen. Gult antyder at bilde av overflaten tas. (B) Kamera med prismet som har trengt ned i sedimentet og SPI bildet eksponeres. (C) Figuren viser en modell av endringer i faunatype fra upåvirkede bunnsedimenter med en rik, dyptgravende fauna (Meget god) til en grunnlevende, fattigfauna i påvirkede områder (Meget dårlig). Sedimentprofilbildet er vist i toppen av figuren, der brunt farget sediment indikerer oksidert, bioturbert sediment mens sortfarget sediment indikerer reduserte forhold. Grenseverdier for BHQ-miljøkvalitetsindeks for vanddyb ≤ 20 meter og > 20 m i henhold til EUs vanndirektiv for marine sedimenter (Pearson & Rosenberg 1978, Nilsson & Rosenberg 1997, Rosenberg m. fl. 2004, Nilsson & Rosenberg 2006 er vist). (D) Eksempel av et overflatebilde med strukturer og børstemarkrør synlig.

Fra bildene kan en beregne en miljøindeks (Benthic Habitat Quality index; BHQ-indeks) ut fra strukturer i sedimentoverflaten (rør av børstemark, fødegrop og ekskrementhaug) og strukturer under sedimentoverflaten (bløtbunnfauna, faunagang og oksiderte hulrom i sedimentet) samt redox-forhold i sedimentet. Indeksen varierer på en skala fra 0 til 15. Denne indeksen kan siden sammenlignes med Pearson og Rosenbergs klassiske modell for faunaens suksessjon. Fra denne modellen klassifiseres bunnmiljøet i henhold til retningslinjer i EUs vannrammedirektiv (Rosenberg m. fl. 2004). Fra overflatebildene kan en studere og kvantifisere dyr på sedimentoverflaten og spor av deres aktivitet.

3.1.1 Feltarbeid/stasjoner

Feltarbeid med SPI-kamera ble utført 19.-21. september 2011 på båten Ina Marita med skipper Bjørn Bye. Arbeidet ble utført av Bjørnar Beylich og John Arthur Berge. Det ble foretatt fotografering på de samme stasjoner som i 2010, men det ble i tillegg gjennomført fotografering på en stasjon i Langfjorden nord for Slambanken (KS-SN), en stasjon ved Jakobsneset (KS-L), 4 stasjoner rundt Reinøya (KS-7W, KS-7N, KS-RN, KS-08) samt en stasjon ved Skjelmsøy (KS-22) og en ved Gamneset (KS-Kros), dvs. i alt 14 stasjoner (**Figur 19**). Stasjonenes koordinater og dyp ses i **Tabell 4**.

Det ble i utgangspunktet tatt 5-6 bilder på hver stasjon, men flere steder måtte vi ta bilder på nytt, ettersom vi hadde litt problemer med å få gode overflatebilder. Havbunnen viste seg å være ganske hard, og selv om vi la på ekstra lodd på kamerautstyret var det enkelte steder hvor kameraet penetrerte mindre enn 3 cm ned i sedimentet. Dette kan igjen føre til at disse bildene kan gå glipp av poeng på BHQ-skalaen for strukturer dypere i sedimentet.



Figur 19 Stasjoner der SPI-fotografering ble foretatt i 2011.

3.2 Resultater

Resultatene fra analyse av SPI-bildene fra 2011 sees i **Figur 20** og **Tabell 4**. For stasjonen KS-03, KS-04 og KS-06 ble det beregnet en BHQ på 0-2 som tilsvarer tilstandsklasse 5 (meget dårlig). På stasjonen KS-07W og KS-07N hadde SPI-kameraet for dårlig penetrasjonsdyp til å kunne fastsette en BHQ, men basert på at det var minimalt med tegn til bioturbasjon og lite tegn til fauna er det overveiende sannsynlig at stasjonen ville bli bestemt til tilstandsklasse 5 (dog med en teoretisk mulighet for å havne i klasse 4, dårlig).

Resultatene i **Figur 20** og **Tabell 4** viser at det er dårlige til meget dårlige forhold for bunnfauna fra utslippspunktet og nordover til vest-siden av Reinøy; altså på stasjonene KS-03, KS-04, KS-06, KS-07W og KS-07N. Trolig skyldes dette at bunnen i dette området er betydelig påvirket av gruveavgang.

På stasjonene KS-L (utenfor Jakobsnes), KS-SN (nord for Slambanken), KS-08 (nær Ropelv) og spesielt på KS-07 (syd for Reinøy) ser derimot forholdene ut til å være noe bedre og med større innslag av naturlig sediment. De relativt gode forholdene på stasjon KS-7 indikerer at selv innenfor Reinøya finnes det områder med relativt gode forhold for bunnfauna. Dette kan muligens ha sammenheng med at turbiditetsmålinger fra 2010 tyder på at det innenfor Reinøya er større konsentrasjoner av avgang på vestsiden av fjorden enn på østsiden.

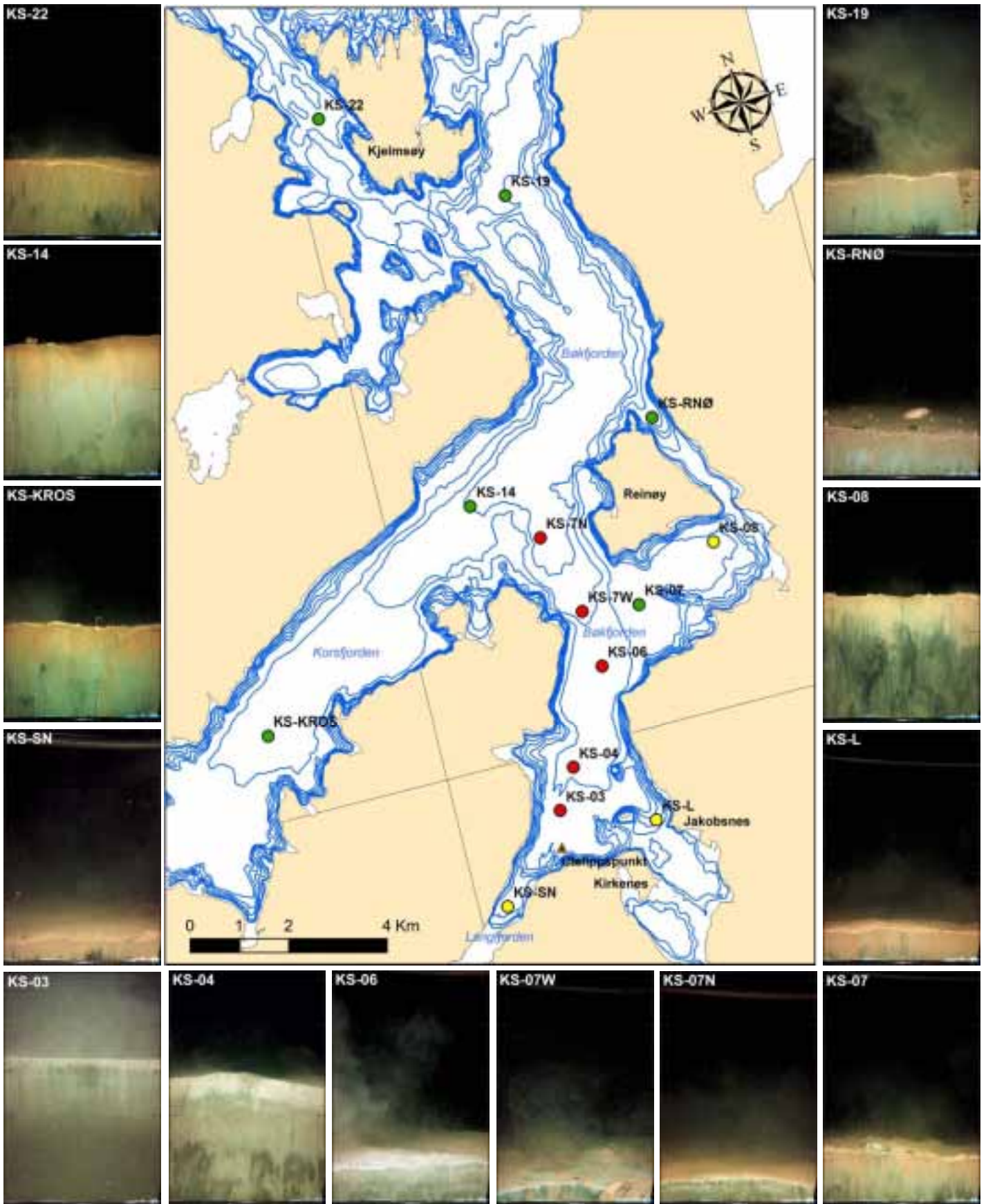
På stasjonene i Korsfjorden (KS-KROS), i den ytre delen av Bøkfjoren (KS-14, KS-19) og vestre del av Skjelmsøy (KS-22) var det relativt gode forhold for bunnfauna og ingen klar påvirkning/effekt av avgangsmateriale i 2011.

Selv om tilstandsklassen er den samme nærmest utslippspunktet (KS-03) som vest for Reinøya (KS-07N) ser man gradvis et større innslag av fauna ettersom man beveger seg nordover fra utslippspunktet. I henhold til SPI-bildene hadde stasjon KS-03 ingen tegn til fauna, KS-04 hadde tegn til fauna på 1 av 4 bilder, og på stasjon KS-06, KS-07W og KS-07N ser man innslag av fauna på de fleste av bildene samt at det på overflaten ligger noe naturlig sedimentert materiale (**Tabell 3**). Bildene fra overflatekameraet viser at dette laget dekker det meste av overflaten samt tydelige spor etter fauna (**Figur 21**).

Tabell 3 Oversikt over innslag av fauna og naturlig sediment på de påvirkete stasjonene.

Stasjon	Andel bilder med fauna eller spor etter fauna*	Type fauna/spor	Naturlig sediment observert
KS-03	0 av 5	-	Nei
KS-04	1 av 4	Fauna	Nei
KS-06	3 av 4	Fauna/faunaganger	Ja
KS-07W	2 av 2	Fauna/børstemarkrør	Ja
KS-07N	2 av 3	Fauna/faunaganger	Ja

* Spor etter krabbe eller annet som beveger seg på overflaten er ikke inkludert.



Figur 20. Tilstandsklasser for bunnforhold i Bøkfjorden basert på BHQ-indeksen, med bildeeksempler (se også Tabell 4).

Tabell 4. SPI-stasjonen fra 2011, posisjoner oppgitt i WGS84 desimalgrader, Dyp, n antall bilder brukt i analysen, tilstandsklasse, BHQ-indeks, aRPD, kameraets penetrasjonsdyp i sediment og loddmengde lagt på for å justere penetrasjonsdyp.

Stasjon	Breddegrad	Lengdegrad	Dyp (m)	n	Tilstandsklasse	BHQ-indeks	aRPD (cm)	Penetrasjon (cm)	Lodd
KS-03	69,73966	30,0535	91	4	5	0,0	-	9,9	0 kg
KS-04	69,7466	30,0657	109	5	5	0,2	-	12,9	16,8 kg
KS-06	69,7628	30,0931	142	4	5	1,8	-	4,4	26 kg
KS-07	69,77178	30,11953	72	4	2	8,0	1,72	5,8	26 kg
KS-7W*	69,77317	30,089827	171	3	5	-	-	1,2	26 kg
KS-7N*	69,787726	30,07776	217	3	5	-	-	2,9	26 kg
KS-08	69,77938	30,1654	56	4	3	6,5	2,66	13,1	26 kg
KS-14	69,7963	30,0461	207	4	2	8,5	2,56	14,8	26 kg
KS-19	69,84844	30,10326	260	4	2	8,8	2,24	7,4	26 kg
KS-22	69,87	30,0177	143	4	2	7,5	2,70	8,5	26 kg
KS-RNØ	69,80355	30,15	66,6	3	2	8,3	1,77	4,8	16,8 kg
KS-KROS	69,7655	29,9143	124	4	2	8,5	2,80	9,8	26 kg
KS-SN**	69,7254	30,01475	30	2	3	5,5	1,73	2,5	26 kg
KS-L**	69,73378	30,10123	38	3	3	6,8	2,4	2,9	16,8/26 kg

*: Penetrasjonsdypet var for dårlig til å foreta en presis analyse, men det er liten tvil om at stasjonen faller i tilstandsklasse 5.

**Poengsum er muligens redusert noe grunnet dårlig penetrasjonsdyp

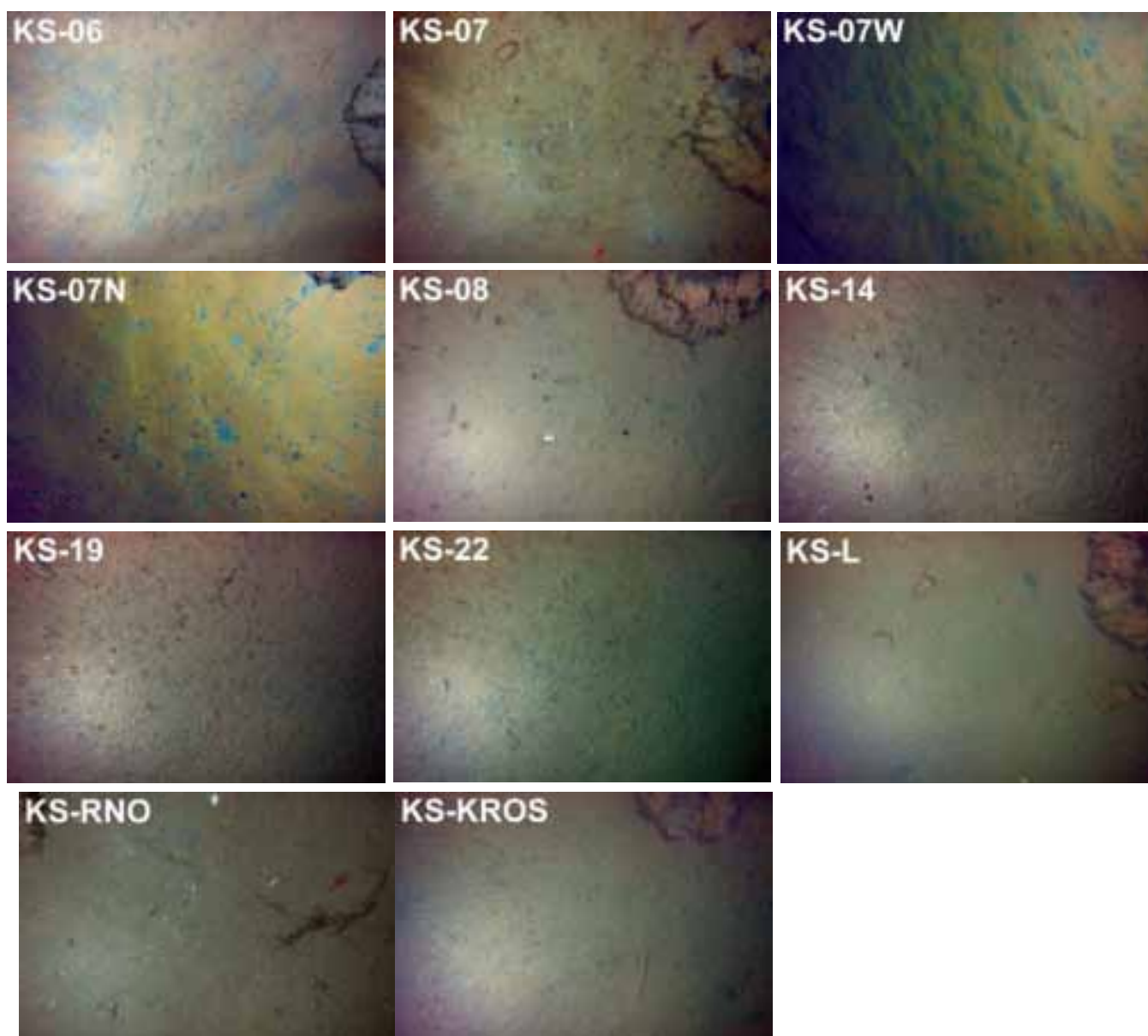
3.2.1 Historisk utvikling

I **Tabell 5** vises resultatene fra SPI-undersøkelser fra tidligere år. Resultatene viser at det på stasjonene KS-03, KS-04 og KS-06 i en avstand av ca. 0,7-3,6 km fra utslippet var svært dårlige forhold både i 2010 og 2011. På disse stasjonene var forholdene i 2010 og 2011 dårligere enn i 2007 før ny oppstart av gruvedriften. På stasjonene lengst fra utslippet (KS-19, KS-14) var det relativt gode forhold og ingen forandring fra 2010 til 2011. Også KS-22 og KS-KROS som ligger fjernt fra utslippet viste gode forhold for bunnfauna i 2011. På KS-7 antydes imidlertid en viss forbedring fra 2010 til 2011 og tilstanden var i 2010 tilbake til det som ble observert i 2007. Stasjon KS-08 ved Ropelv ble ikke tatt i 2010. De relativt dårlige forholdene som ble registrert der i 2007 ble tilskrevet andre forhold enn utslippene fra Sydvaranger gruve (Skaar og Nilson, 2007). Det er svært liten bebyggelse i området og eneste næringsaktivitet i området er et landbasert fiskeoppdrettsanlegg. Anlegget har et utslipp til sjø. Resultatene fra KS-8 i 2011 tyder på en viss forbedring fra 2007.

Tabell 5 SPI-stasjonene undersøkt i 2011 samt tidligere undersøkte SPI-stasjoner i området (Skaar og Nilson, 2007, Berge et al. 2011).

Stasjon	År	Bredde-grad	Lengde-grad	Dyp	Tilstands-klasse	BHQ-indeks	n	Penetrasjon (cm)	Lodd	aRPD
KS-02	2007	69,7278	30,0997	21	4*	4,0	2	3,5	16,8 kg	1,1
KS-03	2007	69,7395	30,0539	80	3*	6,0	1	1,0	16,8 kg	1,2
KS-03	2010	69,7395	30,05389	80	5	0,0	5	7,2	26 kg	0,0
KS-03	2011	69,73966	30,0535	91	5	0,0	4	9,9	0,0 kg	0,0
KS-04	2007	69,7466	30,0657	108	2	8,8	4	1,8	16,8 kg	1,4
KS-04	2010	69,7466	30,065699	109	5	1,8	4	10,5	26 kg	0,0
KS-04	2011	69,7466	30,0657	109	5	0,2	5	12,9	16,8 kg	0,0
KS-04b	2007	69,7507	30,062	80	2	9,0	2	1,5	16,8 kg	1,2
KS-04c	2007	69,7504	30,0546	65	3*	7,0	4	1,6	16,8 kg	1,3
KS-04d	2007	69,7511	30,0467	42	2	7,5	2	1,5	16,8 kg	1,0
KS-05	2007	69,7525	30,0866	120	3*	7,0	1	1,5	26 kg	1,2
KS-06	2007	69,7628	30,0931	137	2	9,5	2	2,5	16,8 kg	1,2
KS-06	2010	69,76279	30,09309	137	5	0,5	2	5,0	26 kg	0,0
KS-06	2011	69,7628	30,0931	142	5	1,8	4	4,4	26 kg	0,0
KS-07	2007	69,7723	30,1192	70	2	9,2	5	4,1	16,8 kg	1,7
KS-07	2010	69,7723	30,11919	70	3*	5,5	4	3,6	26 kg	2,0
KS-07	2011	69,77178	30,11953	72	2	8,0	4	5,8	26 kg	1,7
KS-08	2007	69,7797	30,1667	52	4	4,0	4	9,8	16,8 kg	0,5
KS-08	2011	69,77938	30,1654	56	3	6,5	4	13,1	26 kg	2,7
KS-14	2007	69,7963	30,0461	200	1	11,3	3	10,2	16,8 kg	2,2
KS-14	2010	69,7963	30,04609	201	2	7,7	3	10,0	26 kg	2,5
KS-14	2011	69,7963	30,0461	207	2	8,5	4	14,8	26 kg	2,6
KS-19	2007	69,8483	30,1029	254	2	8,5	4	6,1	16,8 kg	2,5
KS-19	2010	69,8482	30,1029	250	2	9,0	3	6,0	26 kg	1,6
KS-19	2011	69,84844	30,10326	260	2	8,8	4	7,4	26 kg	2,2
KS-22	2011	69,87	30,0177	143	2	7,5	4	8,5	26 kg	2,7
KS-7N	2011	69,78772	30,07776	217	5		3	2,9	26 kg	0,0
KS-7W	2011	69,77317	30,08982	171	5		3	1,2	26 kg	0,0
KS-KROS	2011	69,7655	29,9143	124	2	8,5	4	9,8	26 kg	2,8
KS-L	2011	69,73378	30,10123	37	3*	6,5	2	3,5	16,8 kg	2,6
KS-L	2011	69,7337	30,1012	37,6	3*	7,0	1	2,4	26 kg	2,2
KS-RNO	2011	69,80355	30,15	66,6	2	8,3	3	4,8	16,8 kg	1,8
KS-SN	2011	69,7254	30,01475	30	3*	5,5	2	2,5	26 kg	1,7

**De merkete stasjonene kan ha gått glipp av BHQ-poeng i analysen pga. sitt lave penetrasjonsdyp. Dette kan i noen tilfeller også ha gjort at tilstandsklassen er satt lavere enn den reelt burde vært. At KS-07 får lavere poengsum i 2010 skyldes meget mulig dårlig penetrasjonsdyp, dette går fram av kommentarer til bildeanalyse fra 2010*



Figur 21. Overflatebilder tatt rett før kamerariggen treffer bunnen. Bilder fra KS-03 og KS-04 var ikke brukbare pga. mye partikler i vannet. På KS-L fikk vi heller ikke brukbare bilder til tross for at vi prøvde flere ganger, ukjent årsak. Det lille oppvirlingen av sediment som sees på flere av bildene skyldes at kameraets utløserlodd treffer bunnen.

3.1 Konklusjoner

Hovedbildet etter undersøkelsene i 2011 er at det er svært dårlige betingelser for bunnfauna fra utslippspunktet og ut til Reinøy. På stasjoner nærmest utslippet (KS-03 og KS-4, dvs. til ca. 1.7 km fra utslippet) består overflatesedimentet utelukkende av avgang slik at en her må ha relativ massiv sedimentering.

På stasjonen rundt Reinøya (KS-7, KS-7N, KS-RNØ og KS-8) varierer imidlertid tilstanden relativt mye (god – til meget dårlig, se **Figur 20**). Dette skyldes trolig flere forhold, men en antar at varierende

grad av skjerming mot avgangspåvirkning er viktigst. På de mer fjerntliggende stasjoner utenfor Reinøy (KS-14, KS-19, KS-22, KS-Kros) er det gode forhold for bunnfauna.

Resultatene tyder også på at det ikke er noen klar entydig tendens til at forholdene har endret seg fra 2010 til 2011, men forholdene innenfor Reinøya er klart forverret siden 2007.

4. Vekstinhiveringstest med algen *Skeletonema costatum*

Toksisitetstesting med *Skeletonema costatum* er utført i henhold til ISO 10253 – “Water quality – Marine algal growth inhibition test with *Skeletonema costatum* and *Phaeodactylum tricornutum*». Testen er en 72-timerstest, hvor vekstraten hos alger blir målt under eksponering for testmaterialet løst i vann.

4.1 Testoppsett

I henhold til **Tabell 6** ble oppveid mengde Magnafloc LT38 og Magnafloc 10 løst i litt vann og deretter blandet inn i gruveavgang (ca. 900 g våtvekt) med drillmikser. Blandingen ble helt over i en bøtte og tilsatt sjøvann (ca. 1,8 liter) slik at man fikk en «slurry». Vanninnhold i gruveavgang ved utveiingstidspunkt var ca. 20 %. Dette ga et vann-/gruveavgang-forhold på vektbasis på ca. 3. Blandingen ble satt på gyngebord over helgen slik av sjøvannet ble godt eksponert for gruveavgang tilsatt testsubstans. Sjøvannet ble dekantert fra bøttene og deretter filteret gjennom Whatman GF/C-filter før start slik at en fikk et testvann tilnærmet fritt for større partikler.

Tabell 6. Oversikt over de ulike kombinasjoner av teststoffene Magnafloc LT38 og MagnaflocM10 blandet i gruveavgang fra Sydvaranger Gruver. Sediment fra Bøkfjorden er tidligere deponert gruveavgang. Sediment fra Oslofjorden fungerer som kontrollsediment.

Test kombinasjon	Blandingsforhold
1)	Avgang fra SVG
2)	Avgang fra SVG tilsatt 6,75 mg/kg t.v med MagnaflocLT38
3)	Avgang fra SVG tilsatt 675 mg/kg t.v.med Magnafloc LT38
4)	Avgang fra SVG tilsatt 9.9 mg/kg t.v.med Magnafloc 10
5)	Avgang fra SVG tilsatt 99 mg/kg t.v.med Magnafloc10
6)	Avgang fra SVG tilsatt 6,75 mg/kg t.v.Magnafloc LT38+ 9.9 mg/kg Magnafloc 10/
7)	Avgang fra SVG tilsatt 675 mg/kg t.v. Magnafloc LT38+ 99 mg/kg t.v. Magnafloc 10
8)	Sediment fra Bøkfjorden tatt 200m nord for utslippspunkt for gruveavgang
9)	Referanse sediment from Oslofjord fra 20m dyp utenfor Jeløya

En oversikt over alle resultatene for testene som er gjennomført ses i **Tabell 7**.

For gruveavgang og sedimenter uten tilsetning, dvs. test 1), 8) og 9) ble vekst kun undersøkt i uforynnet testvann. Også for testkombinasjoner 2), 4), 5), og 6), ble vekst kun undersøkt i uforynnet testvann. For testene 3) og 7) og test kombinasjonene 2) og 6) med økende tilsetning, ble det benyttet en testvannskonsentrasjonsrekke på 10, 18, 32, 56 og 100 %. Se vedlegg (Kapitel 12.5) for detaljer vedrørende beregning av mengde Magnafloc LT38 og M10 for test 6) med økende tilsetning. Testvannskonsentrasjonsrekken ble utvidet med flere fortyninger for test 3) og 7). Testene startet på en mandag og ble avsluttet etter 72 timer. For å kunne vurdere resultatene i forhold hvor mye av Magnafloc LT38 som kan ha lekket ut i testvannet ble Magnafloc LT38 også testet alene, direkte i testmediet. Det kan gi en indikasjon på hvor mye av Magnafloc LT38 som eventuelt har blitt frigjort fra gruveavgangen.

Tabell 7. Oversikt over alle tester utført med *Skeletonema costatum*. Testkombinasjoner er oppgitt i venstre kolonne med tallverdi slik det er oppført i **Tabell 6.** I denne kolonnen er det for test 2 og 6 også oppgitt tilleggster oppført med høyere testkonsentrasjoner: 2) x18, innebærer at man har benyttet 18x den oppførte konsentrasjon for test 2. Prosentverdier i kolonnenavn angir grad av fortykning av testvannet som er benyttet. Cells er antall algeceller målt etter 72 timer. V.rate er vekstrate estimert etter 72 timer. Signifikant lavere verdier enn for kontroll for celledtall og vekst er angitt med rødt.

Test kombinasjon +Dato for test	Testkonsentrasjon av testvann											
	Kontroll		100 %		56 %		32 %		18 %		10 %	
	Cells	V.rate	Cells	V.rate	Cells	V.rate	Cells	V.rate	Cells	V.rate	Cells	V.rate
1) 12.12.11	536	1,6	568	1,6								
2) 12.12.11	536	1,6	794	1,7								
2) x10 23.01.12	327	1,5	939	1,8	944	1,8	710	1,7	691	1,7	367	1,5
2) x18 23.01.12	327	1,5	1010	1,9	1094	1,9	640	1,7	708	1,7	433	1,5
2) x 32 23.01.12	327	1,5	167	1,2	505	1,6	577	1,7	508	1,6	362	1,5
2) x56 20.02.12	674	1,6	910	1,9	781	1,8	331	1,4	339	1,4	674	1,8
3) 12.12.11	536	1,6	None	None	None	None	None	None	None	None	None	None
3) 20.02.12	674	1,6	None	None	None	None	None	None	None	None	None	None
4) 12.12.11	536	1,6	621	1,6								
5) 12.12.11	536	1,6	971	1,7	717	1,7						
6) 12.12.11	536	1,6	789	1,7								
6 x10 23.01.12	327	1,5	870	1,8	784	1,8	357	1,5	424	1,6	263	1,4
6) x18 23.01.12	327	1,5	779	1,8	637	1,7	867	1,8	876	1,8	831	1,8
6) x32 23.01.12	327	1,5	605	1,7	na	na	527	1,7	652	1,7	425	1,5
6) x56 20.02.12	674	1,6	518	1,5	658	1,6	747	1,6	608	1,6	587	1,6
7) 12.12.11	536	1,6	None	None	None	None	None	None	None	None	None	None
7) 20.02.12	674	1,6	None	None	None	None	None	None	None	None	None	None
8) 12.12.11	536	1,6	939	1,8								
9) 12.12.11	536	1,6	598	1,6								

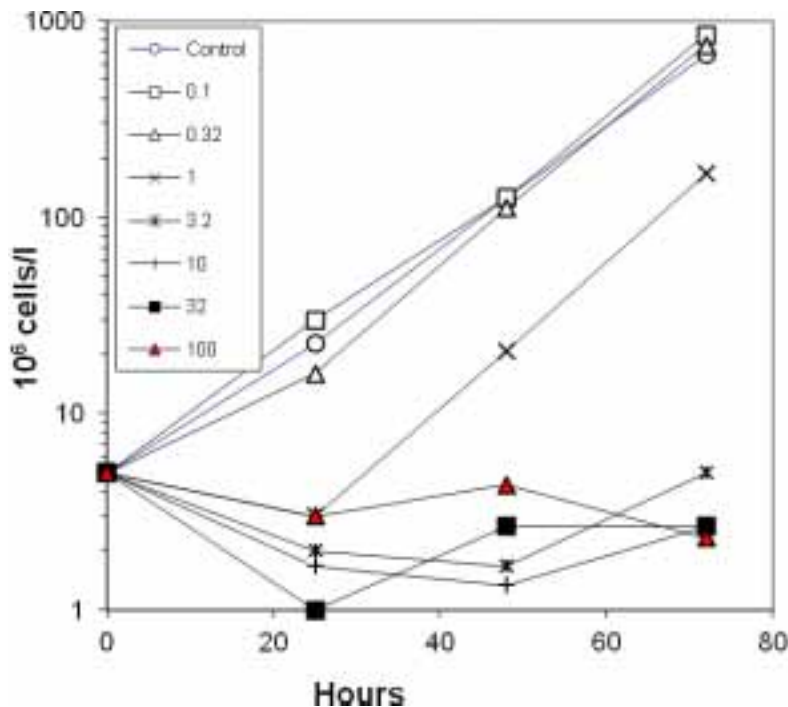
Na- not analysed

None- ingen signifikant celledtalløkning ble observert og vekstrate ble ikke estimert

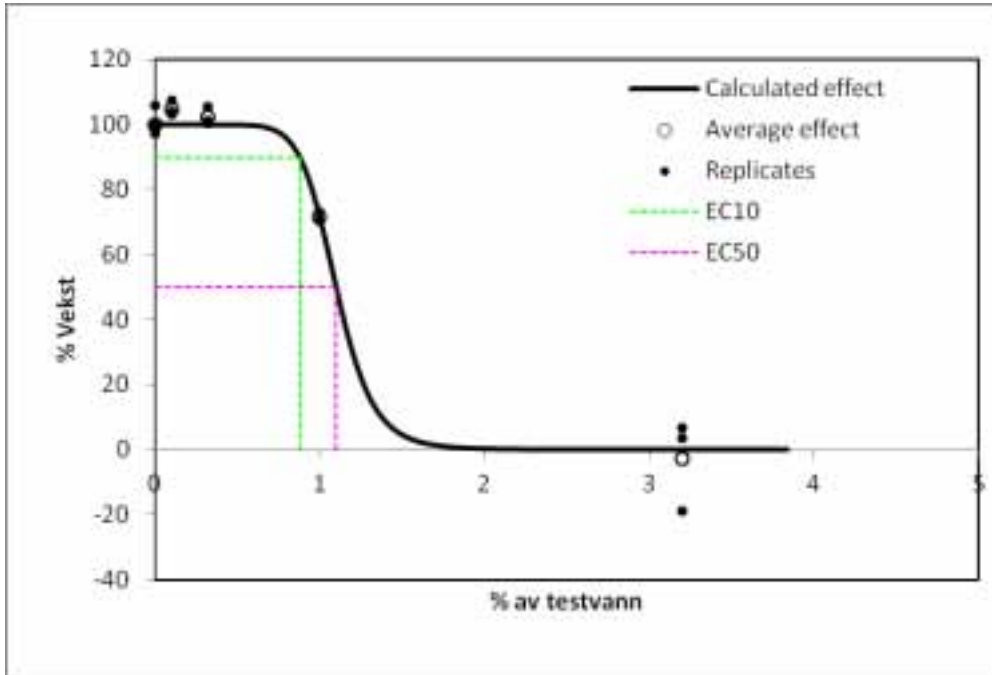
4.2 Resultater

Resultatene for testene med vekstinhibering hos *Skeletonema costatum* er gjengitt i **Tabell 7**. Opplysninger om testdetaljer slik som tillagning av testkonsentrasjoner, målt celletall, oksygen, pH, temperatur m.m. er gjengitt i vedlegg (Kapitel 12.5). Av **Tabell 7** går det frem testkombinasjonen 3) og 7), begge med 675 mg/kg t.v. med Magnafloc LT38, ga full inhibering av cellevekst helt ned til 10 % fortynning av testvannet. Denne testen ble derfor repetert med enda flere fortynninger av testvannet, se **Figur 22** til **Figur 25**. Magnafloc 10 alene, test 4) og 5) ga ingen signifikant reduksjon i cellevekst.

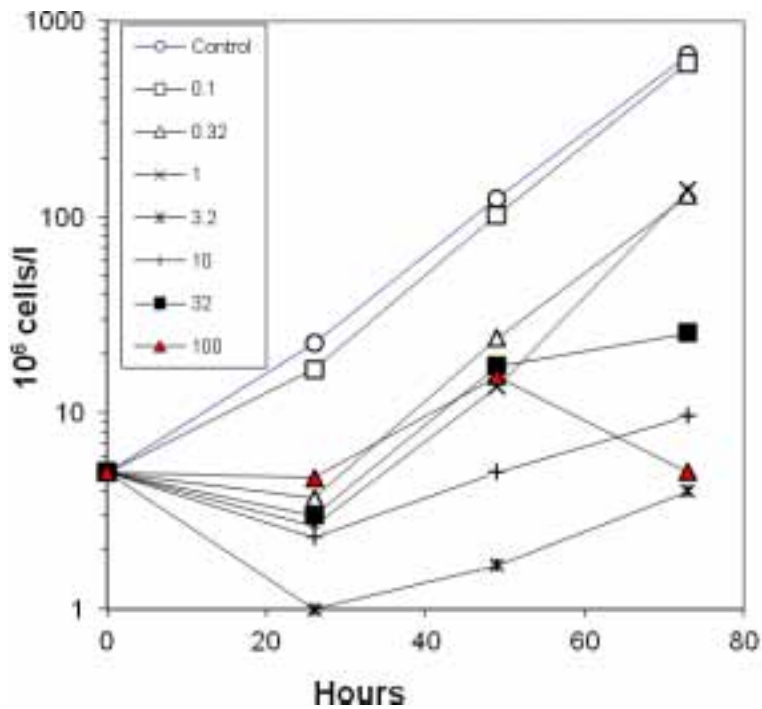
En signifikant reduksjon i cellevekst ble observert for test 3) x32 med Magnafloc LT38 alene men ikke for Magnafloc LT38 +M10 i kombinasjon. For 6) x56 med Magnafloc LT38 +M10 i kombinasjon fikk man også en signifikant vekstinhibisjon. I **Figur 22** og **Figur 23** er resultatene for test 3) gjengitt med vekstkurver og doserespons. EC50 for denne testen ble 1,1 % mht. 684 mg/kg Magnafloc LT38 i gruveavgang. I **Figur 24** og **Figur 25** er resultatene for test 7) gjengitt med vekstkurver og doserespons. EC50 for denne testen ble 0,81 % for 668 mg/kg Magnafloc LT38 +101 mg/kg M10 i gruveavgang. Det er altså meget god overenstemmelse mellom disse testene hvor mengden Magnafloc Magnafloc LT38 er lik mens mengden Magnafloc 10 er ulik. I begge testene er det også tydelig at man for testvannkonsentrasjoner rundt 1 % får en initiell reduksjon i celletall med påfølgende logaritmisk vekst.



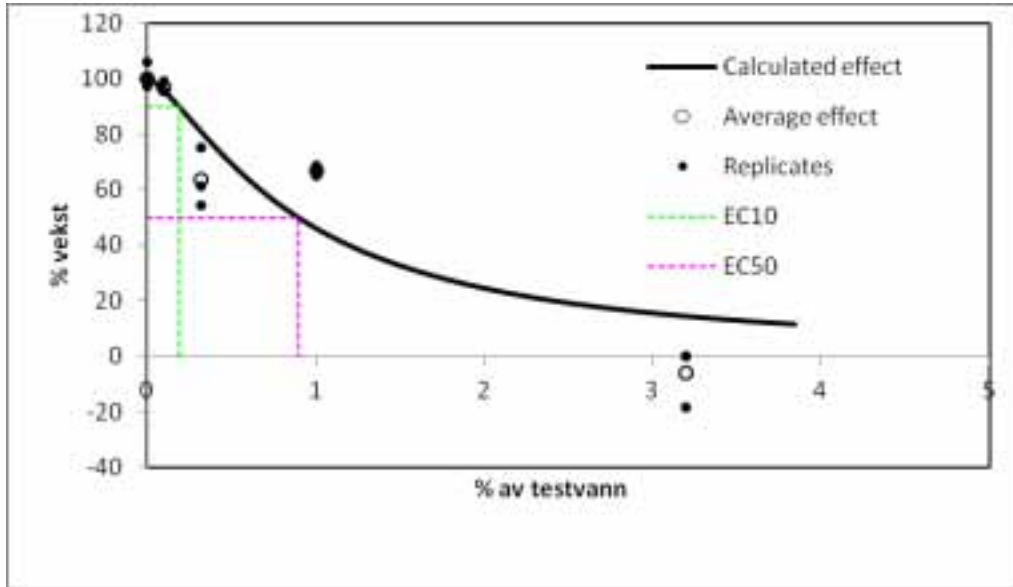
Figur 22. Vekstkurver for test 3) utført 20.02.12. Vekstforløpet til *Skeletonema costatum* er vist for ulike fortynninger av testvann generert fra en slurry med 684 mg/kg av MagnaflocLT38 i gruveavgang.



Figur 23. Beregnet doseresponskurve for test 3) utført 20.02.12 med celledtall fra Figur 22. Datasettet gir en $EC_{50}=1.1$ % (konsentrasjon av testvannet i % som gir 50 % vekstreduksjon) og $EC_{10}=0.87$ % (konsentrasjon som gir 10 % vekstreduksjon).



Figur 24. Vekstkurver for test 7) utført 20.02.12. Vekst førløpet til *Skeletonema costatum* er vist for ulike fortynninger av testvann generert fra en slurry med 684 mg/kg av Magnafloc LT38 + 99 mg/kg M10 i gruveavgang.



Figur 25. Beregnet doseresponskurve for test 7) utført 20.02.12 med celletall fra Figur 24. Datasettet gir en $EC_{50}=0.81$ % av testvannet og $EC_{10}=0.17$ % av testvannet.

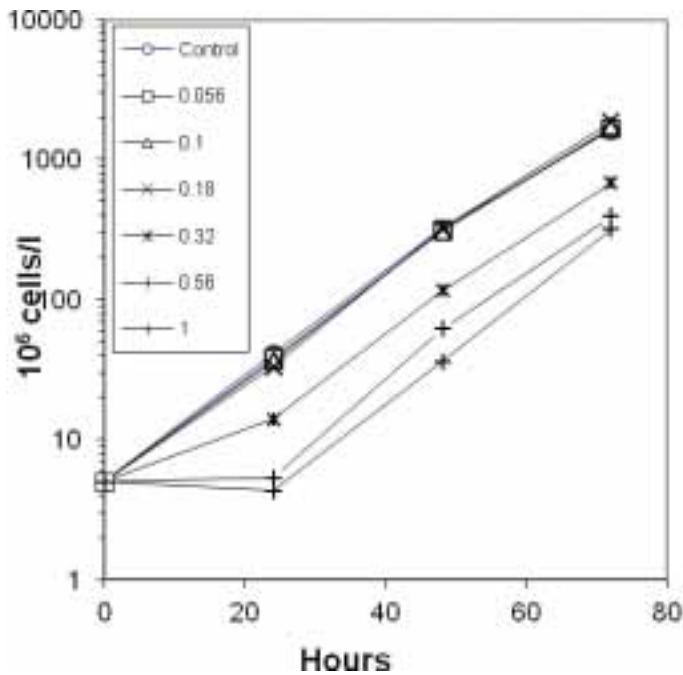
4.2.1 Test med Magnafloc LT38 direkte i testmedium

For å bedre forstå resultatene i **Tabell 7** ble Magnafloc LT38 testet alene. Resultat av test utført 30.01.12 indikerer at ved konsentrasjoner høyere enn 0,18 mg MagnaflocLT38/l får man til å begynne med en redusert vekst, men at de algecellene som er igjen deretter vokser eksponentielt (**Figur 26**). Siden Magnafloc LT38 er et flokkuleringsmiddel kan det tolkes som at en andel av algecellene blir bundet i komplekser mens de som fortsatt er frie vokser uhindret. Det kan altså være snakk om en fysisk effekt snarere enn en kjemisk effekt. Ved bruk av matematisk modell for ikke lineær regresjon ble det estimert en $EC_{50}=1,9$ mg Magnafloc LT38 /l. (EC_{50} er den konsentrasjon hvor vekst etter 72 timer er redusert til 50 % av kontrollen.) Modellen beregner også den konsentrasjonen som gir 10 % redusert vekst benevnt EC_{10} som i denne testen var 0,3 mg Magnafloc LT38 /l.

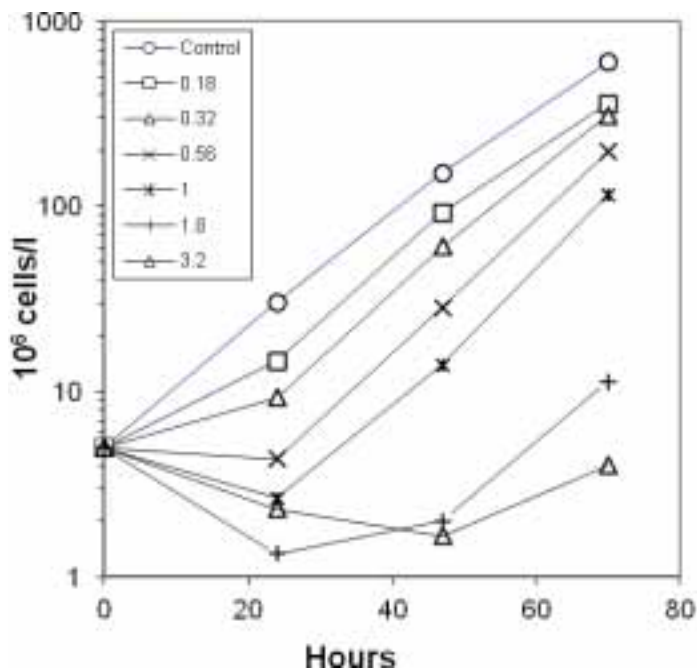
Testen med Magnafloc LT38 alene ble gjentatt 20.02.2012, se **Figur 27**. I denne testen ble $EC_{50}=1,0$ mg/l Magnafloc LT38 og EC_{10} er 0,32 mg/l. Det er derfor god overenstemmelse mellom de to testene.

4.2.2 Vurdering av utlekking til vannfasen av Magnafloc LT38 fra gruveavgang behandlet med Magnafloc LT38

I testkombinasjon 2) med 6.75 mg Magnafloc LT38/kg t.v. vil vannfasen inneholde 2.7 mg/l Magnafloc LT38 hvis alt tilsatt Magnafloc LT38 løses ut i vannfasen. Det ble ikke observert noen vekstinhivering i denne testen, altså må <0.3 mg/l av Magnafloc LT38 være løst ut, dette tilsvarer at minimum 89 % av innblandet Magnafloc LT38 er bundet i gruveavgangen. Slik blir algetestene et indirekte mål på hvor stor andel av benyttet Magnafloc LT38 som bindes i gruveavgang, med deteksjonsgrense på 0,3 mg/l.



Figur 26. Vekst av *Skeletonema costatum* eksponert for ulike konsentrasjoner av Magnafloc LT38 i sjøvann, testet 30.01.12. Testkonsentrasjoner (mg/l) benyttet er oppgitt i tegnforklaringsboksen i figuren., Bemerk logaritmisk skala for celledtall. En rett linje gjennom punktene indikerer logaritmisk vekst.



Figur 27. Vekst av *Skeletonema costatum* eksponert for ulike konsentrasjoner av Magnafloc LT38 i sjøvann, testet 20.02.12. Testkonsentrasjoner (mg/l) benyttet er oppgitt i tegnforklaringsboksen i

figuren. Bemerk logaritmisk skala for celletall. En rett linje gjennom punktene indikerer logaritmisk vekst.

4.3 Konklusjon for algetester

Kun ved tilsetning av Magnafloc LT38 opp mot 32-56x av oppgitt realistisk konsentrasjon i avgangen ved normaldrift ser vi at det løses ut tilstrekkelig Magnafloc LT38 til at det reduserer vekst hos *Skeletonema costatum*. Basert på at veksten hos algen blir redusert ved konsentrasjoner > 0,3 mg/l Magnafloc LT38 tyder det på at man i test 2)x32 LT38, at ca. 99,5 % av Magnafloc LT38 er bundet i gruveavgangen. Tilsvarende for test 6)x56 LT38+M10, blir at her er 99,8 % bundet i gruveavgang. I testene 3) og 7) med 100x LT38 nivå får vi i begge testene en EC50 på ca. 1 % av testvannet, det antyder at det er løst ut ca. 100 mg/l av Magnafloc LT38 i vannfasen, dvs. at 65 % er bundet til gruveavgangen. At man får en signifikant vekstinhiberingseffekt i test 2)x32 LT38 men ikke i 2)x56 LT38 synliggjør noe av usikkerheten rundt denne type testing mht. til reproducerbarhet av utlekking av disse produktene ved innblandet i gruveavgang. Hvor homogent man blander inn teststoffet og hvor omfattende den etterfølgende utvasking er, vil ha stor betydning for utfallet. Den store forskjellen i observert vekstinhibering for test 3) og 7) sammenlignet med test 2)x56 LT38 og 6)x56 LT38+M10 kan tyde på at metningspunktet for gruveavgangen er passert.

Det er klart at Magnafloc 10 ikke påvirker veksten til *Skeletonema costatum* negativt, hverken alene eller i kombinasjon med Magnafloc LT38. Den har heller ingen «beskyttende» effekt ettersom man i test 3) og test 7) oppnår nesten helt lik EC50 for testvannet.

Test med Magnafloc LT38 som rensesubstans ga henholdsvis en EC50 på 1,9 mg/l og 1.0 mg/l. Det er en god reproducerbarhet for to helt uavhengige tester. Det fremkommer fra den daglige tellingen av algeceller, at man i noen testkonsentrasjoner får en reduksjon av antall algeceller i starten av forsøket for senere å oppnå eksponentiell vekst. Det kan tyde på at en del celler ble fanget i komplekser og derfor ikke ble registrert som algeceller, mens de som fortsatt levde fritt vokste som før. Det kan indikere at Magnafloc LT38 ved disse konsentrasjoner har en fysisk effekt ved å immobilisere algecellene og ikke en kjemisk giftig effekt.

5. Akutt giftighetstest med krepsdyret *Acartia tonsa*

Toksisitetstesting med *Acartia tonsa* er utført i henhold til ISO 14669 – “Water quality – Determination of the acute lethal toxicity to marine copepods». Testen er en 48-timerstest, hvor 17-24 dager gamle copepoder blir eksponert for testmaterialet løst i vann.

5.1 Testoppsett

I henhold til **Tabell 8** ble oppveid mengde Magnafloc LT38 og Magnafloc 10 løst i litt vann og deretter blandet inn i gruveavgang/sediment (ca. 900 g våtvekt) med drillmikser. Blandingen ble helt over i en bøtte og tilsatt sjøvann (ca. 1,8 liter) slik at man fikk en «slurry». Vanninnhold i gruveavgang ved utveingstidspunkt var ca. 20 %. Dette ga et vann-/gruveavgangsforhold på vektbasis på ca. 3. Blandingen ble satt på gyngbord over helgen slik av sjøvannet ble godt eksponert for gruveavgang/sediment tilsatt testsubstans. Sjøvannet ble dekantert fra bøttene og deretter filteret gjennom Whatman GF/C filter før start slik at en fikk et testvann tilnærmet fritt for større partikler. For testkombinasjonene 1, 2, 4, 6, 8 og 9 ble kun 100 % testvann benyttet i testen. For testkombinasjon 3, 5 og 7 ble testvannet fortynnet til 56 % og 32 % i tillegg. Testen startet på mandag og ble avsluttet etter 48 timer.

5.2 Resultater

Resultatene for testene med *Acartia tonsa* er gjengitt i **Tabell 8**. Opplysninger om testdetaljer slik som mortalitet, målt oksygen, pH, temperatur m.m. er gjengitt i vedlegg (kapitel 12.6). Som det fremgår at **Tabell 8** ble det ikke observert dødelighet ved noen av de testede konsentrasjoner.

Tabell 8. Resultat av toksisitetstesting med *Acartia tonsa*. OK markerer at det ikke var signifikant dødelighet (<10 %) i testen. t.v. = tørrvekt.

Test kombinasjon	Blandingsforhold	Testkonsentrasjon av testvann		
		100 %	56 %	32 %
1)	SVGs avgang alene	OK	Ikke testet	Ikke testet
2)	6,75 mg LT38/kg t.v. av SVGs avgang	OK	Ikke testet	Ikke testet
3)	675 mg LT38/kg t.v. av SVGs avgang	OK	OK	OK
4)	9.9 mg M10/kg t.v. av SVGs avgang	OK	Ikke testet	Ikke testet
5)	99 mg M10/kg t.v. av SVGs avgang	OK	OK	OK
6)	6,75 mg LT38+ 9.9 mg M10/kg t.v av SVGs avgang	OK	Ikke testet	Ikke testet
7)	675 mg LT38+ 99 mg M10/kg t.v. av SVGs avgang	OK	OK	OK
8)	Sediment from Bøkfjorden	OK	Ikke testet	Ikke testet
9)	Reference sediment from Oslofjord	OK	Ikke testet	Ikke testet

5.3 Konklusjon for testing med *Acartia tonsa*

Det ble ikke observert dødelighet hos *Acartia tonsa* eksponert for vann fra en slurry som inneholder ca. 1/3 sediment fra utslippsområdet i Bøkfjorden. Det ble heller ikke observert dødelighet i *Acartia* eksponert for vannfasen fra en slurry som inneholder inntil 100x oppgitt bruksnivå for MagnaflocLT38. Eksponering for kombinasjonen 100x bruksnivå av MagnaflocLT38 og 10 x bruksnivå av MagnaflocM10 ga heller ingen dødelighet.

Testen viser at eventuelle vannløselige forbindelser i avgang, sediment fra utslippsområdet og fra avgang/sediment som inneholder realistiske konsentrasjoner med Magnafloc 10 (polyakrylamid) og LT38 (polyDADMAC) ikke er akutt giftig for et pelagisk krepsdyr som *Acartia tonsa*.

6. Akutt giftighetstest med strandkrabbe (*Carcinus maenas*)

Testen med krabbe er utført tilsvarende som for fisk, i henhold til «OECD guidelines for testing of chemicals 203 Fish, acute toxicity test». Testen er en 96-timerstest. Testen med krabbe faller inn under regler for forsøksdyr, utøvd av forsøksdyrutvalget. Forsøket ble godkjent av forsøksdyrutvalget før oppstart med referansenummer 3704. Testen er utført som en «limit test». Det innebærer at man ikke tester en konsentrasjonsrekke på 5 konsentrasjoner med den forutsetning at testet konsentrasjon ikke gir signifikant dødelighet. I fall man får signifikant dødelighet må testen gjentas med 5 konsentrasjoner.

6.1 Testoppsett

Testene ble utført ved NIVAs feltstasjon på Solbergstrand som ligger litt syd for Drøbak i Oslofjorden. Det ble benyttet 80 l glassakvarier fylt med 2 cm sediment eller gruveavgang og 8 cm sjøvann fra 60 m dyp i Oslofjorden. Det gir vann-/gruveavgang-forhold på 2 på vektbasis. Testakvarier ble gjort klare fredagen før teststart. I henhold til Tabell 9 ble oppveid Mangafloc LT38 og Magnafloc 10 løst i litt vann og deretter blandet inn i sediment/gruveavgang med drillmikser, og vann ble tilsatt slik at man fikk en «slurry». Blandingen ble helt over i et akvarium og sjøvann tilsatt. Akvariene fikk stå over helgen med lufting slik at vannet i akvariet sirkulerte. 10 krabber ble tilsatt på mandagen og ble deretter observert daglig med samtidig måling av oksygen, temperatur og pH.

6.2 Resultater

Resultatene for testene med krabber er gjengitt i **Tabell 9**. Opplysninger om testdetaljer slik som målt oksygen, pH, temperatur m.m. er gjengitt i vedlegg (kapitel 12.7). Krabbene ble fanget lokalt ved Solbergstrand 1-2 uker før teststart. De hadde gjennomsnittlig skallbredde på 3.8 cm. Det var ingen dødelighet blant krabbene forut for forsøket. Krabbene ble observert til straks å grave seg delvis ned i sedimentet. Det ble ikke observert noen endring i aktivitetsnivå for eksponerte krabber sammenlignet med kontroll. Testen ble gjennomført med temperaturintervall på 12,0-13,6 °C. Variasjon i pH var på 7,9-8,1 og variasjon i oksygen var på 7,1-8,3 mg O₂/l. Saltholdigheten var 31.5 PSU i tester med gruveavgang og 34.5 i testene med sediment fra Oslofjord og Bøkfjorden.

Tabell 9. Resultat av toksisitetstesting med krabber. 10 krabber ble eksponert i 96 timer i akvarier med sediment/vann blandingsforhold som oppgitt i tabellen. t.v.= tørrvekt.

Test kombinasjon	Blandingsforhold	Observert dødelighet hos krabber
1)	SVGs avgang uten noen form for tilsetning	ingen
2)	6,75 mg Magnafloc LT38/kg t.v. av SVGs avgang	ingen
3)	675 mg MagnaflocLT38/kg t.v. av SVGs avgang	ingen
4)	9.9 mg Magnafloc10/kg t.v. av SVGs avgang	ingen
5)	99 mg Magnafloc10/kg t.v. av SVGs avgang	ingen
6)	6,75 mg MagnaflocLT38+ 9.9 mg Magnafloc10/kg t.v. av SVGs avgang	ingen
7)	675 mg Magnafloc LT38+ 99 mg Magnafloc10/kg t.v. av SVGs avgang	ingen
8)	Sediment fra Bøkfjorden tatt 200m nord for utslippspunkt for gruveavgang	ingen
9)	Referanse sediment from Oslofjord fra 20m dyp utenfor Jeløya	ingen

6.3 Konklusjon for testing med krabber

Det ble ikke observert dødelighet av krabber eksponert for inntil 100x oppgitt bruksnivå for Magnafloc LT38. Kombinasjonen 100x Magnafloc LT38 og 10x Magnafloc 10 nivå ga heller ingen dødelighet. Testen viser at hverken avgangen alene, sedimentet fra nærområdet til utslippet eller avgang tilsatt realistiske konsentrasjoner med Magnafloc 10 (polyakrylamid) og LT38 (polyDADMAC) ved normale driftsforhold er akutt giftig for strandkrabbe.

7. Akutt giftighetstest med piggvar (*Scophthalmus maximus*)

Fisketesten er utført i henhold til OECD guidelines for testing of chemicals 203 «Fish, acute toxicity test». Testen er en 96-timerstest. Testen faller inn under regler for forsøksdyr utøvd av forsøksdyrutvalget. Forsøket ble godkjent av forsøksdyrutvalget før oppstart med referansenummer 3703. Testen er utført som en «limit test». Det innebærer at man ikke tester en konsentrasjonsrekke på 5 konsentrasjoner med forutsetning om at testet konsentrasjon ikke gir signifikant dødelighet. I fall man får signifikant dødelighet må testen gjentas med 5 konsentrasjoner.

7.1 Testoppsett

Testene ble utført ved NIVAs feltstasjon på Solbergstrand som ligger litt syd for Drøbak i Oslofjorden. Det ble benyttet 80 l glassakvarier fylt med 2 cm sediment eller gruveavgang og 8 cm sjøvann fra 60 m dyp i Oslofjorden. Det gir vann-/gruveavgang-forhold på 2 på vektbasis. Testakvarier ble gjort klare fredagen før teststart. I henhold til **Tabell 10** ble oppveid mengde LT38 og M10 løst i litt vann og deretter blandet inn i sediment/gruveavgang med drillmikser, vann ble tilsatt slik at man fikk en «slurry». Blandingen ble helt over i et akvarium og sjøvann tilsatt. Akvariene fikk stå over helgen med lufting slik at vannet i akvariet sirkulerte. 10 piggvar ble tilsatt på mandagen og ble deretter observert daglig med samtidig måling av oksygen, temperatur og pH.

7.2 Resultater

Resultatene for testene med piggvar er gjengitt i **Tabell 10**. **Tabell 10** Opplysninger om testdetaljer slik som målt oksygen, pH, temperatur m.m. er gjengitt i Vedlegg (kapitel 12.8). Testfisken var ca. 6 måneder gammel og hadde en gjennomsnittsvikt på 8,4 gram og gjennomsnittslengde på 7,9 cm. Fisken ble observert å grave seg straks delvis ned i sedimentet. Det ble ikke observert noen endring i aktivitetsnivå for eksponert fisk sammenlignet med kontroll, ei heller endring i pigmentering. Testen ble gjennomført med temperaturintervall på 12,1-13,6 °C. Variasjon i pH var på 7,9-8,1 og variasjon i oksygen var på 7,1-8,3 mg O₂/l. Saltholdigheten var 31.5 PSU i tester med gruveavgang og 34.5 i testene med sediment fra Oslofjord og Bøkfjorden.

Tabell 10. Resultat av toksisitetstesting med Piggvar. 10 fisk ble eksponert i 96 timer i akvarier med sediment/vann blandingsforhold som oppgitt i tabellen. t.v.= tørrvekt.

Test kombinasjon	Blandingsforhold	Observert dødelighet hos piggvar
1)	SVGs avgang alene	ingen
2)	6,75 mg MagnaflocLT38/kg t.v. av SVGs avgang	ingen
3)	675 mg MagnaflocLT38/kg t.v. av SVGs avgang	ingen
4)	9.9 mg Magnafloc10/kg t.v. av SVGs avgang	ingen
5)	99 mg Magnafloc10/kg t.v. av SVGs avgang	ingen
6)	6,75 mg MagnaflocLT38+ 9.9 mg M10/kg t.v. av SVGs avgang	ingen
7)	675 mg MagnaflocLT38+ 99 mg Magnafloc10/kg t.v. av SVGs avgang	ingen
8)	Sediment fra Bøkfjorden tatt 200 m nord for utslippspunkt for gruveavgang	ingen
9)	Referanse sediment fra Oslofjord fra 20 m dyp utenfor Jeløya	ingen

7.3 Konklusjon

Det ble ikke observert dødelighet av piggvar eksponert for inntil 100x oppgitt bruksnivå for Magnafloc LT38 og 10x bruksnivå av Magnafloc 10. Kombinasjonen 100x MagnaflocLT38 og 10x Magnafloc10 nivå ga heller ingen dødelighet. Testen viser at hverken avgangen alene, sedimentet fra nærområdet til utslippet eller avgang tilsatt realistiske konsentrasjoner med Magnafloc 10 (polyakrylamid) og LT38 (polyDADMAC) ved normale driftsforhold er akutt giftig for fisken.

8. Giftighetstester med fjæremark (*Arenicola marina*)

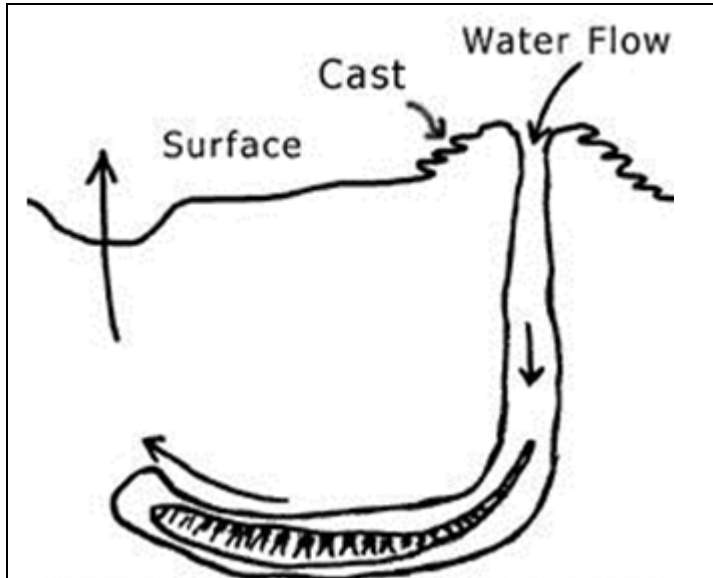
8.1 Metode

8.1.1 Testorganisme

Fjæremark (*Arenicola marina*, se **Figur 28**) er mark som lever nedgravd i sedimentet og finnes fra fjæra og ned til ca. 20 meters dyp. I sedimentet ligger marken i U-formede, slamkledte rør (se **Figur 29**). Store mengder sediment passerer tarmen daglig og de lever av det organiske materialet som er knyttet til partiklene i sedimentet. Det ufordøyde materialet kan ses på toppen av sedimentet som små ”spagettilignende” hauger (vist som ”cast” i **Figur 29**). Arten opptrer langs hele norskekysten og finnes fra Middelhavet til Arktis.



Figur 28. Fjæremark (foto: Sigurd Øxnevad).



Figur 29. Prinsippskisse av en fjæremark nedgravd i sedimentet (kilde:<http://marinebio.org/species.asp?id=57>).

8.1.2 Testprinsipp, testbetingelser og adferdsparametere

Toksisitetstesten med fjæremark går ut på å måle hvor godt marken finner seg til rette i det aktuelle sedimentet som skal testes. Dersom sedimentet er av tilstrekkelig kvalitet forventes det at marken graver seg ned og prosesserer mye av sedimentet. Da vil man kunne observere (og eventuelt mengdebestemme) haugene med "avføring" på toppen av sedimentet ("casting"). Er sedimentet av dårlig kvalitet, eksempelvis i form av et høyt innhold av giftstoffer, vil man ikke observere tilsvarende mengder "avføring" (lav "casting rate") og marken vil dessuten kunne reagere atferdsmessig ved ikke å grave seg ned i sedimentet. Sediment av dårlig kvalitet vil også kunne medføre dødelighet.

Testen ble gjennomført med sediment som inneholdt avgang fra Sydvaranger gruve, med og uten Magnafoc LT38 og Magnafloc 10. Sediment tatt ca. 200 m fra utslippet i Bøkfjorden ble også testet. Det ble benyttet sediment fra Ytre Oslofjord som kontrollsediment. Det ble benyttet 14 forskjellige grupper i testen (**Tabell 11**). Kontrollsediment ble innblandet for å lage en «fortynningsrekke», men også for at testsedimentet skulle ha et visst naturlig preg.

Tabell 11. Oversikt over sedimenttypene som ble benyttet i testen.

Gruppe	Testmateriale
1	Kontrollsediment fra Ytre Oslofjord
2	Avgang (uten Magnafloc LT38 og Magnafloc 10) og kontrollsediment i forhold 1:1
3	Avgang (uten Magnafloc LT38 og Magnafloc 10) og kontrollsediment i forhold 1:9
4	Avgang (uten Magnafloc LT38 og Magnafloc 10) og kontrollsediment i forhold 1:99
5	Avgang (med Magnafloc LT38, ca. 675 mg/kg t.v.) og kontrollsediment i forhold 1:1
6	Avgang (med Magnafloc LT38, ca. 675 mg/kg t.v.) og kontrollsediment i forhold 1:9
7	Avgang (med Magnafloc LT38, ca. 675 mg/kg t.v.) og kontrollsediment i forhold 1:99
8	Avgang (med Magnafloc 10, ca. 99 mg/kg t.v.) og kontrollsediment i forhold 1:1
9	Avgang (med Magnafloc 10, ca. 99 mg/kg t.v.) og kontrollsediment i forhold 1:9
10	Avgang (med Magnafloc 10, ca. 99 mg/kg t.v.) og kontrollsediment i forhold 1:99
11	Avgang (med Magnafloc LT38, ca. 675 mg/kg t.v. og Magnafloc 10, ca. 99 mg/kg t.v.) og kontrollsediment i forhold 1:1
12	Avgang (med Magnafloc LT38, ca. 675 mg/kg t.v. og Magnafloc 10, ca. 99 mg/kg t.v.) og kontrollsediment i forhold 1:9
13	Avgang (med Magnafloc LT38, ca. 675 mg/kg t.v. og Magnafloc 10, ca. 99 mg/kg t.v.) og kontrollsediment i forhold 1:99
14	Sediment tatt i nærheten av utslippet i Bøkfjorden blandet i forholdet 1:1 med kontrollsediment

Gruveavgangsmaterialet som ble benyttet var tilsendt fra SVG høsten 2011 og inneholdt i utgangspunktet ikke Magnafloc LT38 eller Magnafloc 10, men inneholdt for øvrig rester av de produksjonskjemikaliene som følger avgangen. Den ønskede mengde Magnafloc LT38 og Magnafloc 10 ble blandet inn i avgangen og kontrollsedimentet rett før starten av testen.

De aktuelle sedimenttypene ble veid opp, homogenisert, og overført til testbokser i størrelse 17 x 17 x 12 cm. Det ble brukt 1 kg sediment i hver boks og det ble brukt tre replikater (bokser) til hver testgruppe. Sjøvann (fra 60 m dyp, utenfor NIVAs marine forskningsstasjon på Solbergstrand) ble tilsatt over sedimentet, og oksygenforsyning ble besørget ved luftbobling fra to akvariepumper. Fjæremarken ble overført til boksene tre dager etter at luftboblingen var satt i gang over sedimentblandingen. Det ble overført fem fjæremark til hver boks. Fjæremarken som ble brukt i testen var importert fra Nederland (Topsy Baits, Oosthavendijk 1a, 4475 AA, Wilhelminadorp). Forsøksoppsettet er vist på bilde 2.

Følgende respons ble observert i hver boks:

- Nedgraving etter tilsetting (antall mark som har gravd seg ned i sedimentet). Dette ble notert etter 1, 2 og 4 timer.
- Aktivitet og fødeinntak. "Ekskrementhaugene" ble registrert etter 1, 3 og 10 dager og ble bestemt semikvantitativt (vurderes som 2 (normal), 1 (mindre enn normal) og 0 (ingen). Størrelsen på ekskrementhaugene i kontrollsedimentet ble ved ethvert tidspunkt vurdert som "normal".
- Dødelighet. Forsøket ble avsluttet etter 10 dager, og antall levende mark ble registrert.



Bilde 2. Forsøksoppsettet som ble brukt i toksisitetstesten (foto: Sigurd Øxnevad).

I behandling 1-4 (se **Tabell 11**) ble mulige effekter av selve avgangen uten tilsetning testet. I behandling 5-7 ble mulige effekter av ulike mengder Magnafloc LT38 testet. I behandling 8-10 ble eventuelle effekter av ulike mengder Magnafloc 10 testet, i behandling 11-13 ble mulige effekter av en kombinasjon av Magnafloc LT38 og Magnafloc 10 testet og i behandling 14 ble det testet for mulig effekt av sediment tatt ca. 200 m fra utslippet i Bøkfjorden. Resultater etter behandling 14 er spesielt interessant fordi en her tester sediment i som i hovedsak inneholder avgang fra SVG. Resultatene fra denne testen er derfor direkte relevant for hva en kan forvente av effekter i resipienten i utslippets nærområde.

Eventuelle forskjeller i respons mellom behandling 2 og 5 belyser effekter av høye nivåer av Magnafloc LT38 i sedimentet. Eventuelle forskjeller i respons mellom behandling 3 og 6 belyser effekter av moderate nivåer av Magnafloc LT38 i sedimentet. Eventuelle forskjeller i respons mellom behandling 4 og 7 belyser effekter av lave nivåer av Magnafloc LT38 i sedimentet. Eventuelle forskjeller i respons mellom behandling 2 og 8 belyser effekter av høye nivåer av Magnafloc 10 i sedimentet. Eventuelle forskjeller i respons mellom behandling 3 og 9 belyser effekter av moderate nivåer av Magnafloc 10 i sedimentet. Eventuelle forskjeller i respons mellom behandling 4 og 10 belyser effekter av lave nivåer av Magnafloc 10 i sedimentet. Eventuelle forskjeller i respons mellom behandling 2 og 11 belyser effekter av høye nivåer av Magnafloc LT38 i kombinasjon med Magnafloc 10 i sedimentet. Eventuelle forskjeller i respons mellom behandling 3 og 12 belyser effekter av moderate nivåer av Magnafloc LT38 i kombinasjon med Magnafloc 10 i sedimentet. Eventuelle forskjeller i respons mellom behandling 4 og 7 belyser effekter av lave nivåer av Magnafloc LT38 i kombinasjon med Magnafloc 10 i sedimentet.

8.2 Resultater

8.2.1 Nedgraving etter tilsetting

Gruppe 11, med høye nivåer av både Magnafloc LT38 og Magnafloc 10, skilte seg ut ved at ingen av markene gravde seg ned i løpet av de første fire timene etter overføring til sedimentet (**Tabell 12**). I de andre gruppene hadde all marken gravd seg ned etter to timer.

Tabell 12. Oversikt over antall fjæremark som hadde gravd seg ned i sedimentet etter henholdsvis 1, 2 og 4 timer etter at de ble overført til akvariene. Avvik fra «normalen» er markert med rødt.

Gruppe	Replikat	Antall mark nedgravd etter 1 t	Antall mark nedgravd etter 2 t	Antall mark nedgravd etter 4 t
1	A	4	5	5
	B	4	5	5
	C	3	5	5
2	A	5	5	5
	B	5	5	5
	C	5	5	5
3	A	5	5	5
	B	5	5	5
	C	5	5	5
4	A	5	5	5
	B	5	5	5
	C	5	5	5
5	A	5	5	5
	B	5	5	5
	C	5	5	5
6	A	5	5	5
	B	5	5	5
	C	5	5	5
7	A	5	5	5
	B	5	5	5
	C	5	5	5
8	A	5	5	5
	B	5	5	5
	C	5	5	5
9	A	5	5	5
	B	5	5	5
	C	5	5	5
10	A	5	5	5
	B	5	5	5
	C	5	5	5
11	A	0	0	0
	B	0	0	0
	C	0	0	0
12	A	2	5	5
	B	5	5	5
	C	5	5	5
13	A	4	5	5
	B	5	5	5
	C	5	5	5
14	A	5	5	5
	B	5	5	5
	C	5	5	5

8.2.2 Aktivitet og fødeinntak

Ved dag 1, 3 og 10 ble det observert lav eller ingen aktivitet i gruppe 5 og 11 (**Tabell 13**). I disse to gruppene lå det mark på sedimentoverflaten gjennom hele testperioden (**Figur 30**). I alle de andre gruppene var det spor etter normal aktivitet og fødeinntak slik som vist for kontrollsedimentet (se **Figur 31**). I behandling 4 ble det imidlertid observert en død mark ved slutten av forsøket og det var først etter 10 dager at all marken hadde gravd seg ned.

Tabell 13. Oversikt over aktivitet vurdert etter observerte ekskrementhauger på sedimentoverflaten, og dødelighet ved avslutning av testen etter 10 dager. Ekskrementhaugene ble registrert etter 1, 3 og 10 dager og ble bestemt semikvantitativt. Dette ble vurdert som 2 (normal), 1 (mindre enn normal) og 0 (ingen). Omfanget av ekskrementhaugene i kontrollsedimentet ble ved ethvert tidspunkt vurdert som "normal".

Gruppe	Replikant	Dag 1		Dag 3		Dag 10		
		Aktivitet	Ant. mark på overflaten	Aktivitet	Ant. mark på overflaten	Aktivitet	Ant. mark på overflaten	Antall døde mark
1	A	2		2		2		0
	B	2		2		2		0
	C	2		2		2		0
2	A	2		2		2		0
	B	2		2		2		0
	C	2		2		2		0
3	A	2		2		2		0
	B	2		2		2		0
	C	2		2		2		0
4	A	2	1	2		2		0
	B	2		2	1	2		0
	C	2		2		2		1
5	A	0	5	0	4	0	5	0
	B	1	3	0	4	1	3	0
	C	1	3	1	3	0	5	0
6	A	2		2		2		0
	B	2		2		2		0
	C	2		2		2		0
7	A	2		2		2		0
	B	2		2		2		0
	C	2		2		2		0
8	A	2		2		2		0
	B	2		1	1	2		0
	C	2		2		2		0
9	A	2		2		2		0
	B	2		2		2		0
	C	2		2		2		0
10	A	2		2		2		0
	B	2		2		2		0
	C	2		2		2		0
11	A	0	5	0	5	0	5	0
	B	0	5	1	5	0	5	0
	C	1	5	1	3	1	3	0
12	A	2		2	1	2		0
	B	2		2		2		0
	C	2		2		2		0
13	A	2		2	1	2		0
	B	2		2		2		0
	C	2		2		2		0
14	A	2		2		2		0
	B	2		2		2		0
	C	2		2		2		0

I noen av boksene i gruppe 5 og gruppe 11 hadde enkelte mark gravd seg ned. De fleste markene lå imidlertid på overflaten. Det var ingen ekskrementhauger på sedimentoverflaten i disse to gruppene. De få fjæremarkene som hadde gravd seg ned hadde dermed ikke inntatt noe sediment som føde.



Figur 30. Sediment fra gruppe 11, avgang (med Magnafloc LT38 og Magnafloc 10) og kontrollsediment i forhold 1:1 (foto: Sigurd Øxnevad).



Figur 31. Kontrollsediment med spor av naturlig graveaktivitet (foto: Sigurd Øxnevad).

De registrerte adferdsparametrene tyder på at sedimentet med høyest konsentrasjon av Magnafloc LT 38 er uegnet som substrat for fjæremark. Det var ingen ekskrementhauger på toppen av sedimentoverflaten i boksene med høy konsentrasjon av Magnafloc LT38 (gruppe 5 og 11 i testen). Dette viser at fjæremarken tok til seg lite eller ingen føde og dermed ikke trivdes i dette sedimentet.

I avgang tilsatt Magnafloc 10 var det normal aktivitet og fødeinntak. I sedimentet samlet inn i nærheten av utslippet i Bøkfjorden var det også normal aktivitet og fødeinntak.

8.2.3 Dødelighet

Det ble funnet én død fjæremark i gruppe 4. Det var ellers ingen dødelighet i noen av testen.

8.3 Konklusjoner

Resultatene av toksisitetstesten indikerer at avgangsmaterialet med de benyttede konsentrasjonene av Magnafloc LT38 og Magnafloc 10 ikke er akutt giftig for fjæremark. Sedimentet som var samlet inn i nærheten av utslippet i Bøkfjorden og fortynnet 1:1 med kontrollsediment var heller ikke giftig for fjæremarken.

De registrerte adferdsparameterne tyder likevel på sedimentet med høyest konsentrasjon av Magnafloc LT38 er uegnet som substrat for fjæremark. Det var ingen ekskrementhauger på toppen av sedimentoverflaten i boksene med høy konsentrasjon av Magnafloc LT38 (gruppe 5 og 11 i testen). Dette viser at fjæremarken tok til seg lite eller ingen føde og dermed ikke trivdes i dette sedimentet.

Fjæremarken viste normal aktivitet og fødeinntak i sediment med avgang med lav og moderat konsentrasjon av Magnafloc LT38, i sediment med avgang med Magnafloc 10 og i sediment med avgang uten tilsetning av Magnafloc LT38 eller Magnafloc 10. Fjæremarken viste også normal aktivitet og fødeinntak i sediment tatt i nærheten av utslippet i Bøkfjorden.

Resultatene viser at sedimentene selv i nærområdet til utslippet, dvs. med den restmengde prosesskjemikalier som normalt havner på bunnen fra avgangsdeponeringen, ikke fører til akutt dødelighet hos fjæremark og heller ikke fører til avvikende adferdsresponsen slik en ville antatt dersom sedimentets fysiske/kjemiske egenskaper var uforenelig med normal adferd. Forsøkene er imidlertid en akutttest og betyr nødvendigvis ikke at bunndyr i sin alminnelighet trives i sedimentene. Resultatene fra SPI-undersøkelsene tyder også på ugunstige forhold for bunnfauna i utslippets nærrområde. Dette skyldes trolig nedslammingseffekter samt at avgangen inneholder svært lite organisk karbon, og ikke at det finnes gruvekjemikalier i toksiske konsentrasjoner i sedimentet.

9. Caged mussels in Bøkfjorden - Biological effects studies

9.1 Introduction

Biological effects studies using field transplanted mussels have been widely used to assess the potential biological effects of a variety of point discharges on the local marine environment including: urban effluents (Gagnon et al. 2006); produced water discharge from oil and gas activities (Hylland et al. 2008; Brooks et al. 2011); and mining (Zorita et al. 2006). Marine mussels are widely considered as one of the most useful biological indicators of pollution; they are sessile filter feeders that accumulate contaminants in their tissues both through ingestion of particles and soluble substances in the water. In addition, they have a wide array of sensitive biomarker tools available and are amenable to transplantation studies.

The biological effects measurements selected for this study were used to provide a sensitive evaluation of mussel health. The health status of the mussel can be directly related to the amount of environmental stress imposed on the individual through a variety of factors including contaminant exposure. Therefore, the health status of a mussel can provide important information about its surrounding environment including water quality. The biological effects tools used include; lysosomal membrane stability (LMS) and micronuclei formation (MN) in haemocytes, relative volume density of basophilic cells (VvBAS), neutral lipid accumulation (NL) and cellular energy allocation (CEA) in digestive gland tissue, as well as whole organism responses through condition index (CI) and stress on stress (SonS) measurements. A brief introduction to these methods is provided below. In addition, metal body burden was measured to establish exposure of the mussels to the mine discharge providing supporting information to the biomarker responses.

The overall objective of the study was to provide an assessment of the potential biological effects of the environmental conditions in the Bøkfjorden area, including the discharge water from the Sydvaranger mine (SVG). The potential impact of the environmental conditions was assessed using an integrated suite of biomarker tools in mussels caged at known distances from the discharge outlet. Metal body burden data was also included to support the biological effects endpoints.

9.2 Background on the measured biomarkers

9.2.1 Condition Index

Condition index is used to provide a simple measured of organism health, encompassing the physiological activity such as growth, reproduction, secretion, etc., under environmental conditions. Condition index is a general health parameter that can be influenced by both biotic and abiotic factors that can cause physiological stress on the organism. The condition index is typically recorded in exposure studies using mussels since they are quick and easy to perform and provide information at the individual level.

9.2.2 Stress on stress

Exposure to air is a natural stressor that can be used to provide an assessment of the individual mussels physiological capacity to survive out of water. The test assumes that mortality in air would occur more rapidly in pre-stressed animals than in control animals and is a whole organism response providing a

relative indication of the individual mussel's health status. The test has been previously used in mussels to differentiate between exposed and control groups (Hellou and Law, 2003; Viarengo et al. 1995).

9.2.3 Cellular energy allocation

Environmental pressures such as contaminant exposure can result in increased burdens on metabolic resources. The CEA approach measures these metabolic resources by quantifying the available energy reserves and energy consumption at a cellular level of biological organization and to incorporate all components into a net cellular energy budget of the organism (De Coen and Janssen, 1997; Erk et al. 2011). The net energy budget can be used to provide a measure of stress in an organism brought about by environmental pressures. CEA has been applied in a variety of aquatic field and laboratory studies using different organisms including Crustacea and Mollusca (Smolders et al. 2004; Olsen et al. 2007).

9.2.4 LMS (NRRT)

LMS (assayed as neutral red retention time, NRRT) is an easy to perform and low cost test to detect impairments of the functional integrity of cells (Livingstone et al. 2000; Moore et al. 2006). The method uses one of a range of available dyes which will accumulate in the lysosomal compartment of cells. A reduction in membrane integrity will cause the dye to leak back into the cytosol, an effect which can then be quantified. The method is used with circulating cells (e.g. haemocytes), but techniques exist to use a similar method on other tissues (Lowe et al. 1995; Viarengo et al. 2007). The membrane integrity of lysosomes has been found to be affected by a range of environmental stressors, including metals and organic chemicals (Lowe et al. 1995). This is a well-established method, which is recommended by ICES scientific working groups as a biological effects tool for environmental monitoring with assessment criteria available.

9.2.5 Micronuclei formation

Micronuclei (MN) are chromatin-containing structures that are surrounded by a membrane and have no detectable link to the cell nucleus. The MN test provides an indication of chromosomal damage, and has been found to show a time-integrated response to complex mixtures of pollutants (Baršienė et al. 2006; Gorbi et al. 2008). The frequency of MN is regarded as an important tool for in situ monitoring of DNA damage and is recommended as an effective tool for mussel biomonitoring with assessment criteria available (ICES, 2010).

9.2.6 Basophilic cell volume

The epithelium of the digestive gland is comprised by two cell types: digestive and basophilic cells (Morton, 1983). Digestive cells are involved in the intracellular digestion of food materials, whereas basophilic cells are less abundant secretory cells believed to contribute to extracellular digestion and metabolic regulation (Marigómez et al. 2002). Under normal physiological conditions the digestive cells outnumber the basophilic cells, but under different stress situations, including exposure to pollutants, the number of basophilic cells increases (Zaldibar et al. 2007). These changes in the cell type composition were first attributed to basophilic cell proliferation, but it has been recently concluded that it mainly results from digestive cell loss (Zaldibar et al. 2007). Thus, digestive cell loss resulting from environmental stress, measured as the volume of basophilic cells (VvBAS), provides a sensitive indication of sub lethal damage due to contaminant exposure.

9.2.7 Neutral lipid accumulation

The effects of pollutants are often associated with unbalanced fatty acid metabolisms and the accumulation of neutral lipids in the lysosomal vacuolar system. The lysosomal storage of neutral lipids in mussel digestive glands has been found to be a useful marker of change in the physiology of the cells (Viarengo et al. 2007). Thus, lipophilic contaminants may alter the metabolism of neutral lipids leading to abnormal accumulation of that lipid class inside lysosomes (Moore, 1988).

Consequently elevated levels of neutral lipid within the lysosomes of digestive glands of mussels have been linked with organism stress and reduced health status.

9.3 Methods

9.3.1 Collection of field mussels

Mussels (*Mytilus* spp.) were collected from Brashamna, an area approximately 40 km from the study site considered to be a clean location relatively unaffected by anthropogenic inputs. The mussels were collected by the boat and crew of Dykknor AS. The mussels were gently cleaned of excess debris before being used in the caged field exposure. Mussels between 5 and 7 cm length were selected (5.74 ± 0.68 , mean \pm SD).

9.3.2 Mussel cages

Mussel cages consisting of nylon mesh bags were attached to secured moorings and positioned at known distances (0.6, 3 and 10 km) from the discharge outlet. Mussel cages containing approximately 80 mussels were attached to each mooring. Two moorings were used for each of the three stations, with the second mooring acting as a backup. The position and co-ordinates of all three mussel stations, in relation to the discharge point, can be seen in **Figure 1** and **Table 1**. The boat and crew of Dykknor AS were used to deploy the buoys safely and to ensure placement at the desired location. The mussel stations were located in waters of 50 ± 5 m deep, with the mussels held at a depth of 30 m. Submerged buoys positioned just above the mussels ensured that the cages were held upright in the water column. The mussel cages were deployed on the 14th September 2011 and retrieved after approximately 6 weeks. Turbidity measurements performed during a survey in September (see chapter 2) showed the water at 30 m depth, at the location of group 1 mussels, was clearly influenced by particles from the tailings (1.5 PSU at T1 and 3 PSU at TX); whereas it was difficult to see any influence of particles at the location of group 2 and 3 mussels at the 30 m depth (0.2-0.4 PSU at T10 and T19).

The mussels from groups 1-3 were retrieved with the aid of the M/S Ina Marita and crew, whilst the mussels representing group 4 were collected by Dykknor AS from the same location as those used in the cage exposure. Mussels from groups 1 and 4 were collected and sampled on the 23rd October 2011, whilst mussels from groups 2 and 3 were collected and sampled on the 24th October 2012. The collected mussels were placed in a cooler box for transport back to the field laboratory, which was set-up at the Sydvaranger main office in Kirkenes. This was to ensure that the mussels were processed immediately after collection, with all mussels sampled within 1 h of collection. There were no mortalities observed upon collection for any of the mussel groups.

Where possible, the same mussel was used to measure a number of endpoints as shown in the mussel sampling protocol (**Figure 2**). Neutral red retention (NRRT) was measured in the first 20 mussels, biometry information was recorded and the digestive gland sampled and measured for basophilic cell volume (VvBAS) and neutral lipid accumulation (NL). The next 20 mussels were used for micronuclei formation (NL), biometry, and the digestive gland removed for CEA. A further 20 mussels were used for stress on stress (SonS) and biometry, whilst the remaining mussels were used for metals analysis.

Table 1. Co-ordinates of the mussel groups including the original location of the mussel population used in the cage transplant study.

Mussel station	Co-ordinates	Distance from the outlet (km)
1	N69 44.399 E30 02.489	0.6
2	N69 45.585 E30 04.159	3
3	N69 49.142 E30 05.938	10
4 (source population)	N69 53.966 E29 44.723	40



Figure 1. Approximate locations of the three field mussel groups in Bøkfjorden in relation to the Sydvaranger mine discharge outlet. Approximate distances from the outlet: group 1 – 0.6 km; group 2 – 3 km; group 3 – 10 km. Group 4 – From Brashamn 40 km (source of the mussels, not on the map).

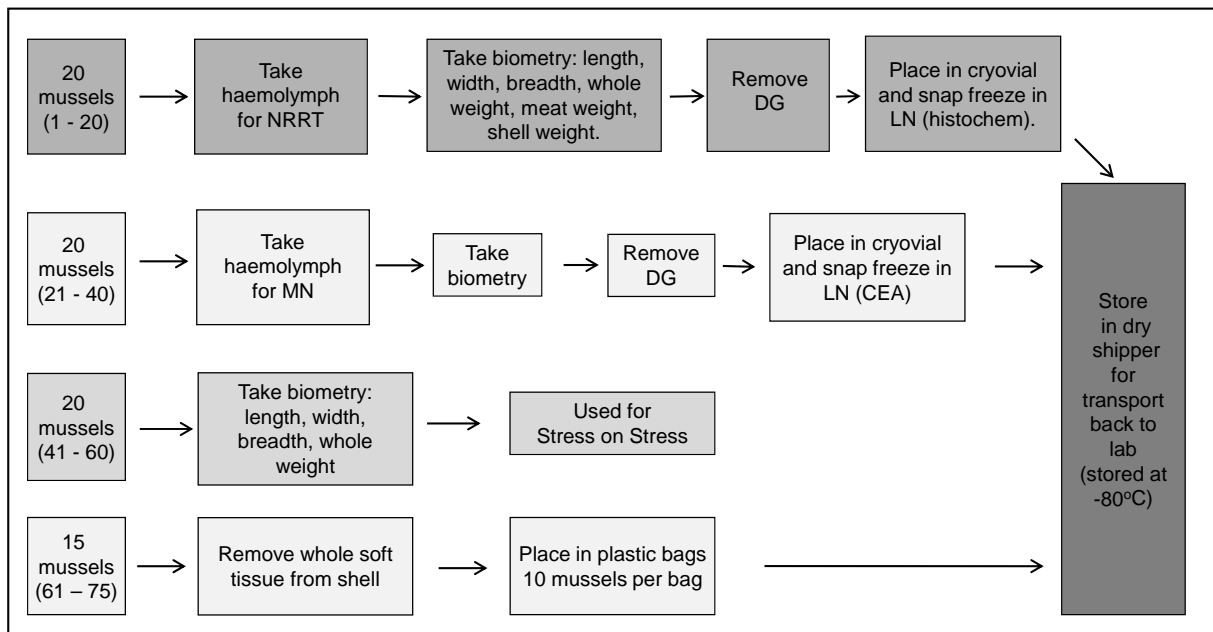


Figure 2. Sampling protocol for the collection of the mussel haemolymph and tissues for the biological and chemical analysis.

9.3.3 Tissue chemistry

For each mussel group, triplicate mussel samples were taken for analysis of selected metals. Ten whole mussels per sample were removed from their shells and placed in high temperature treated (560°C) glass containers. The mussels were frozen and transported to NIVA on dry ice. All samples were stored at -20°C until analysis. Metal concentrations were determined in homogenised whole mussel samples using inductively coupled plasma-mass spectrometer (ICP-MS, Perkin-Elmer Sciex ELAN 6000).

9.4 Biomarkers

9.4.1 Condition index

The condition index was measured on twenty mussels for each group using the ratio of the weight of the soft tissue to the total weight (shell + soft tissues + palaeal liquid) of the mussel, multiplied by 100 (Damiens et al. 2007).

$$CI = (\text{soft tissue weight (g)} / \text{total weight (g)}) \times 100.$$

9.4.2 Stress on stress

Twenty mussels were selected from each group and biometry measurements recorded before they were placed in a humid incubator at $15 \pm 0.5^\circ\text{C}$. The mussels were checked at the same time every day and mortalities recorded until all mussels had expired. Mussels were considered dead if their shells were gaping and showed no sign of movement when gently tapped on the shell.

9.4.3 Cellular energy allocation

Total available energy (E_a) was calculated by combining the energy sources from carbohydrate, lipid and protein. CEA calculations were made by comparison of the available energy and consumed energy using the following equation (Erk et al. 2008) modified from Verslyke and Janssen (2002).

$$E_a (\text{available energy}) = E_{\text{carbohydrate}} + E_{\text{lipid}} + E_{\text{protein}} (\text{mJ/ mg ww})$$

$$E_c (\text{energy consumption}) = \text{Electron Transport System (ETS) activity (mJ/ mg ww / h)}$$

$$CEA = E_a / E_c$$

Digestive gland tissue was diluted eleven fold with homogenisation buffer (0.1 M Tris-HCl buffer, 0.4 M MgSO₄, 15% polyvinylpyrrolidone and 0.2% Triton X-100, pH 7.5), homogenised and aliquoted. ETS analysis was carried out directly after homogenisation and protein, carbohydrate and lipid samples were then frozen and stored at -80°C until use.

Energy consumption: measured as ETS activity. Microplates with 96 wells were filled with 100 µL 0.1M BSS (Trizma HCl/ base buffer pH 7.5, 0.3% Triton X), 50 µL NAD(P)H solution (1.17 nM NADH, 250 nM NADPH in distilled water), 50 µL of sample and 100µl iodinitrotetrazolium chloride (INT). Four replicate measurements were made for each sample on a spectrophotometer (Molecular Devices Thermomax plate reader, Sunnyvale, USA) at 490 nm, 2°C, every 15 sec for 10 min). V_{max} was calculated by the Softmax Pro Software (Molecular Devices, Sunnyvale, USA).

Protein concentration was determined using the BioRad DC protein assay reagents (Hercules, California, USA) following the procedure described by Lowry et al. (1951).

Carbohydrate was measured in samples that were first washed with 15% trichloroacetic acid (TCA) and centrifuged (18.8 g for 5 min). The resulting pellet was washed with 5% TCA and centrifuged again (18.8 g for 5 min). The supernatants from the two centrifugation steps were mixed and the

content of carbohydrate was measured spectrophotometrically at 490 nm after the addition of 1 part phenol and 4 parts sulphuric acid. Glycogen from bovine liver was used as a standard.

Lipid measurements were based on the technique used by Bligh and Dyer, (1959). Samples containing 200 μL were added to 500 μL chloroform. After vortex mixing, 500 μl methanol and 250 μL distilled water were added and the solution was mixed further and centrifuged (18.8 g for 5 min). The chloroform phase was then removed and added to tubes containing 500 μL sulphuric acid and incubated at 200°C for 15 minutes. Samples were cooled to room temperature before the addition of 1 ml distilled water and absorbance measured at 340 nm (Perkin Elmer Victor 1420, Massachusetts, USA). Two reference samples were used for each plate and four replicate measurements were made for each sample. Lipid concentrations were calculated through the use of a tripalmitine standard dilution sequence.

9.4.4 Lysosomal membrane stability

Lysosomal stability was measured in mussel haemocytes using the Neutral Red Retention procedure adapted from Lowe and Pipe (1994). Approximately 0.1 ml of haemolymph was removed from the adductor muscle of the mussel with a syringe containing approximately 0.1 ml of physiological saline. The haemolymph/ saline solution was placed in a microcentrifuge tube, from which a 40 μl sample was removed and pipetted onto the centre of a microscope slide. The slide was left in a dark humid chamber for 15 min to allow the cells to adhere to the slide. Excess liquid was removed from the slide after this time and 40 μl of neutral red solution added (Sigma). The neutral red solution was taken up inside the haemocytes and stored within the lysosome. The ability of the lysosome to retain the neutral red solution was checked every 15 min by light microscopy (x40 objective). The test was terminated and the time recorded when greater than 50% of the haemocytes leaked the neutral red dye out of the lysosome into the cytosol.

9.4.5 Micronuclei formation

Approximately 0.1 ml of haemolymph was removed from the posterior adductor muscle of each mussel with a hypodermic syringe containing 0.1 ml of PBS buffer (100 mM PBS, 10 mM EDTA). The haemolymph and PBS buffer were mixed briefly in the syringe and placed on a microscope slide. The slide was then placed in a humid chamber for 15 min to enable the haemocytes to adhere to the slides. Excess fluid was drained and the adhered haemocytes were fixed in 1% glutaraldehyde for 5 min. Following fixation, the slides were gently rinsed in PBS buffer and left to air-dry overnight. The dried slides were brought back to the laboratory for further processing.

Slides were stained with 1 $\mu\text{g/ml}$ bisbenzimidazole 33258 (Hoechst) solution for 5 min, rinsed with distilled water and mounted in glycerol McIlvaine buffer (1:1). The frequency of micronuclei formation was measured on coded slides without knowledge of the exposure status of the samples to eliminate bias. The frequency of micronuclei in haemocytes was determined microscopically with an 100x objective. A total of 2000 cells were examined for each experimental group of mussels.

Only cells with intact cellular and nuclear membrane were scored. MN were scored when: i) nucleus and MN have a common cytoplasm, ii) colour intensity and texture of MN is similar to the nucleus, iii) the size of the MN is equal or smaller than 1/3 of the nucleus, iv) MN are apparent as spherical structures with a sharp contour.

9.4.6 Volume of basophilic cells

Digestive gland was removed from individual mussels and preserved by snap freezing in liquid nitrogen. The preserved tissue was stored at -80°C until sectioned on a cryostat. Cryostat sections (10 μm thick) were mounted on slides and fixed in Baker's calcium formol for 5 min. Fixed slides were rinsed in distilled water and stained with Gills hematoxylin for 15 secs. After this time they were rinsed in flowing tap water for 20 min and stained with Eosin-Phloxin solution for 30 seconds, before

rinsed in 80% ethanol (H&E). The stained slides were mounted with Euparal and left to dry overnight before microscopic examination.

As an indication of whether cell-type replacement occurred, the volume density of basophilic cells (VvBAS) in the digestive gland of mussels was determined microscopically by means of stereology using a Weibel graticule eye piece (M-168; Weibel, 1979). Counts were made in 3 fields of 2 different sections (20 to 40 μm apart) of the mussel digestive gland (400 x magnification). The volume density of basophilic cells (VvBAS) was calculated using the equation:

$$VvBAS = (X1 + X2 + \dots + Xn) / (m \times n)$$

Where X = number of segments edges (from Weibel graticule) falling on basophilic cells; m = total number of segment edges falling on digestive tissue; n = number of counts (6 for each mussel).

9.4.7 Neutral lipid accumulation

Neutral lipid accumulation was measured in digestive gland sections of the same mussels as that used to assess VvBAS (section 2.4.6). Digestive gland sections (10 μm) were prepared on a cryostat and mounted on to microscope slides where they were fixed in Bakers calcium formol for 15 min. The sections were briefly rinsed in distilled water before placed in 60% triethyl phosphate for 1 min, and stained in oil red O for 15 min. After the 15 min staining, sections were washed in 60% triethyl phosphate and then rinsed in distilled water. Slides were left to air dry before mounted in glycerol gelatin.

9.4.8 Integrated biological response index (IBR/n)

The Integrative Biological Response (IBR) index was developed to integrate biochemical, genotoxicity and histochemical biomarkers (Beliaeff and Burgeot, 2002). In the present study CI, SonS, NL, NRRT, VvBAS, CEA and MN were the biomarkers selected for the IBR calculation. The inverse values of CI, SonS, NRRT and CEA were used since a decrease was reflective of adverse impact. The calculation method is based on relative differences between the biomarkers in each given data set. Thus, the IBR index is calculated by summing-up triangular star plot areas (a simple multivariate graphic method) for each two neighbouring biomarkers in a given data set, according to the following procedure:

- (1) Calculation of the mean and standard deviation for each sample.
- (2) Standardization of data for each sample: $x_i' = (x_i - \bar{x}) / s$; where, x_i' = standardized value of the biomarker; x_i = mean value of a biomarker from each sample; \bar{x} = general mean value of x_i calculated from all compared samples (data set); s = standard deviation of x_i calculated from all samples.
- (3) Addition of the standardized value obtained for each sample to the absolute standardized value of the minimum value in the data set ($y_i = x_i' + |x_{\text{min}}|$).
- (4) Calculation of the Star Plot triangular areas by multiplication of the obtained standardized value of each biomarker (y_i) with the value of the next standardized biomarker value (y_{i+1}), dividing each calculation by 2 ($A_i = (y_i * y_{i+1}) / 2$).
- (5) Calculation of the IBR index which is the summing-up of all the Star Plot triangular areas ($IBR = \sum A_i$) (Beliaeff and Burgeot, 2002). Since the IBR value is directly dependent on the number of biomarkers in the data set, we divided the obtained IBR value by the number of biomarkers used in each case ($n=7$) to calculate IBR/n, according to Broeg and Lehtonen (2006).

9.5 Statistical analysis

Analysis of variance together with a Tukey post-hoc test was performed on the biological effects data to determine statistical differences between groups. Homogeneity of variance was checked with a Levene's test prior to testing, and where necessary, data were log transformed to achieve homogeneity. However, in cases where homogeneity of variances was not achieved a Kruskal-Wallis non-parametric analysis was used. The level of significance was set to $p=0.05$.

9.6 Results

9.6.1 Metal concentrations in mussel tissues

The results of the metal analysis of whole mussel homogenates of the four groups are shown in **Figure 3**. Of the ten metals measured only Al and Fe showed any difference in concentration with highest concentrations found in mussels closest to the discharge outlet. This was particularly the case for Fe with mussels from group 1 (79.3 ± 12.6 mg/ kg w.w.), located 600 m from the outlet, with Fe concentrations approximately double that of mussels located 3000 m away (group 2, 35.3 ± 5.5 mg/ kg w.w.), and over 5 times the concentration measured in mussels from the cage reference group (group 3, 14.67 ± 2.1 mg/ kg w.w.). Concentrations of Al and Fe were higher in the wild mussel group (group 4) compared to the caged reference group (group 3).

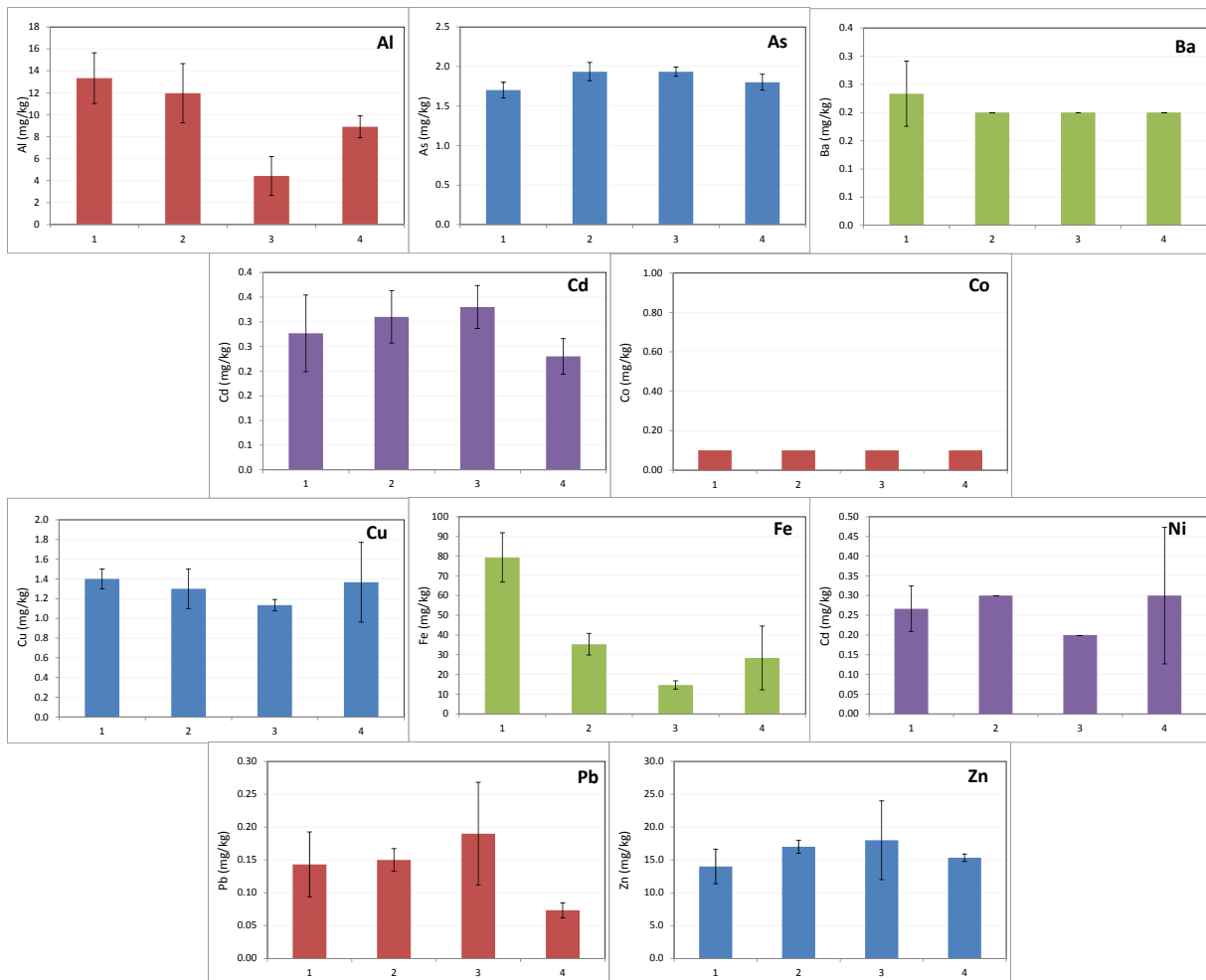


Figure 3. Metal concentrations in whole mussel homogenates from the different groups. Groups 1- 3 represent the field cage mussels, group 4 represents the wild control group (mg/kg w.w., mean \pm SD, $n=3$).

9.6.2 Condition index

The mean condition index of mussels closest to the discharge outlet (group 1) was significantly lower than that of the mussels from the other two cage groups (groups 2 and 3, $p<0.05$, **Figure 4**). However,

the mean condition index of mussels from the wild reference group (group 4) was comparable to those mussels closest to the discharge outlet (group 1).

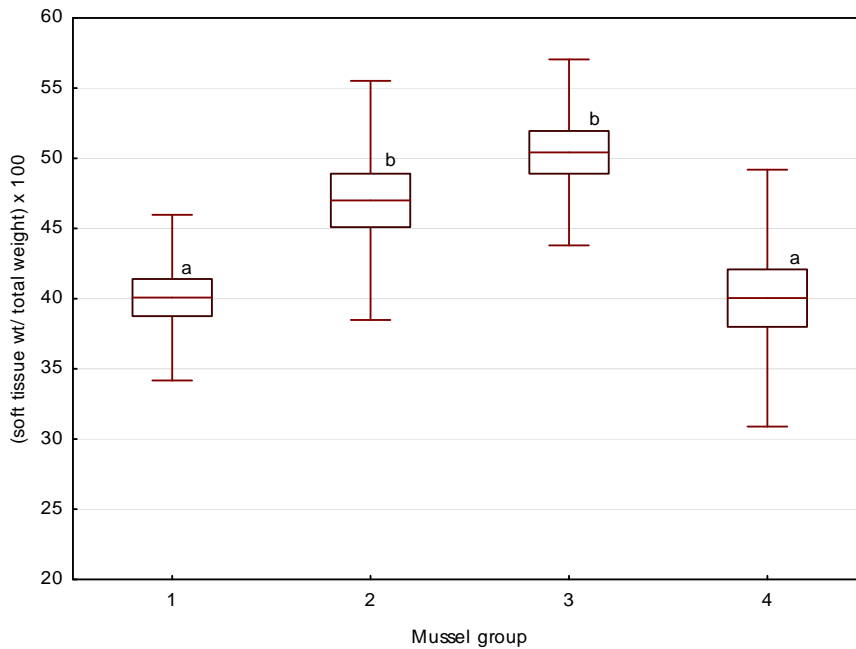


Figure 4. Condition index of mussels from the different groups. Mean, standard error (box) and standard deviation (whiskers) Groups labelled with the same letter are not significantly different from each other (ANOVA, Tukey $p < 0.05$, $n = 20$).

9.6.3 Stress on Stress

The stress on stress test showing the survival time in air revealed clear differences between the mussel groups (**Figure 5**). Longer survival durations were observed in mussels from groups 2 and 3 compared to groups 1 and 4. The duration resulting in 50% mortality (LT50) was lowest in mussels from group 4 and group 1, approximately 8 days and 9 days respectively, whilst LT50 increased to 11.5 days and 12 days for group 2 and group 3 respectively.

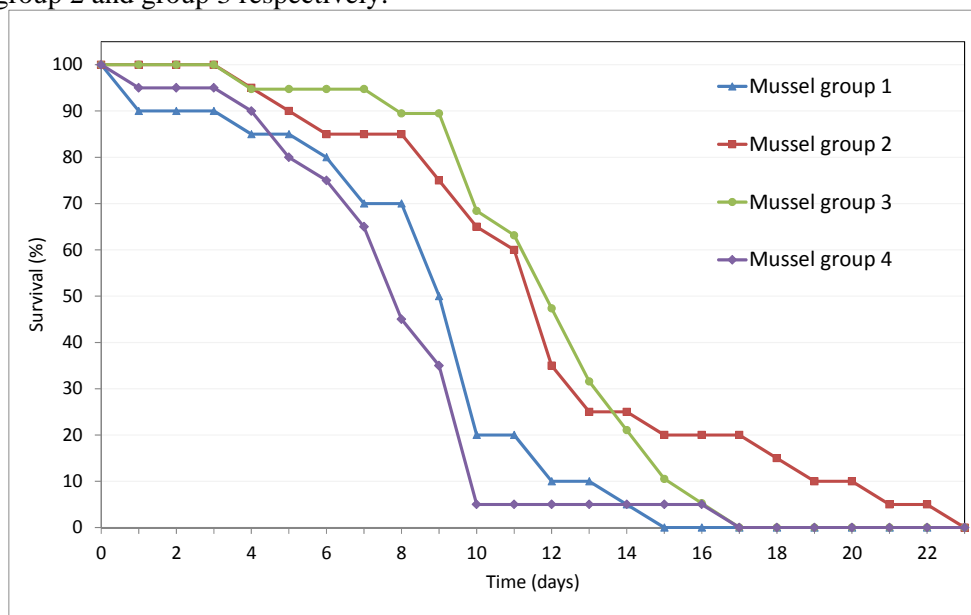


Figure 5. Stress on stress tests: the survival rate of mussels from the different groups exposed to air at $15 \pm 0.5^\circ\text{C}$ ($n = 20$).

9.6.4 Cellular Energy Allocation

The results of the CEA analysis are presented in **Figure 6**. Lipid, proteins and carbohydrates each converted into their energetic equivalent, enabled comparison of the relative contribution of these fractions to the mussels overall energy budget. Protein was by far the most important energy source with average contribution of 70-75% of the overall energy budget in all mussel groups. Lipid and carbohydrate made up the remaining 25-30%. Although carbohydrates appeared to be more important in the group 1 mussels, there were no significant differences between the mussel groups. This was also true for lipids and proteins. Furthermore, there were no significant differences between the mussel groups for available energy (E_a), the energy consumed (E_c) or the calculated CEA.

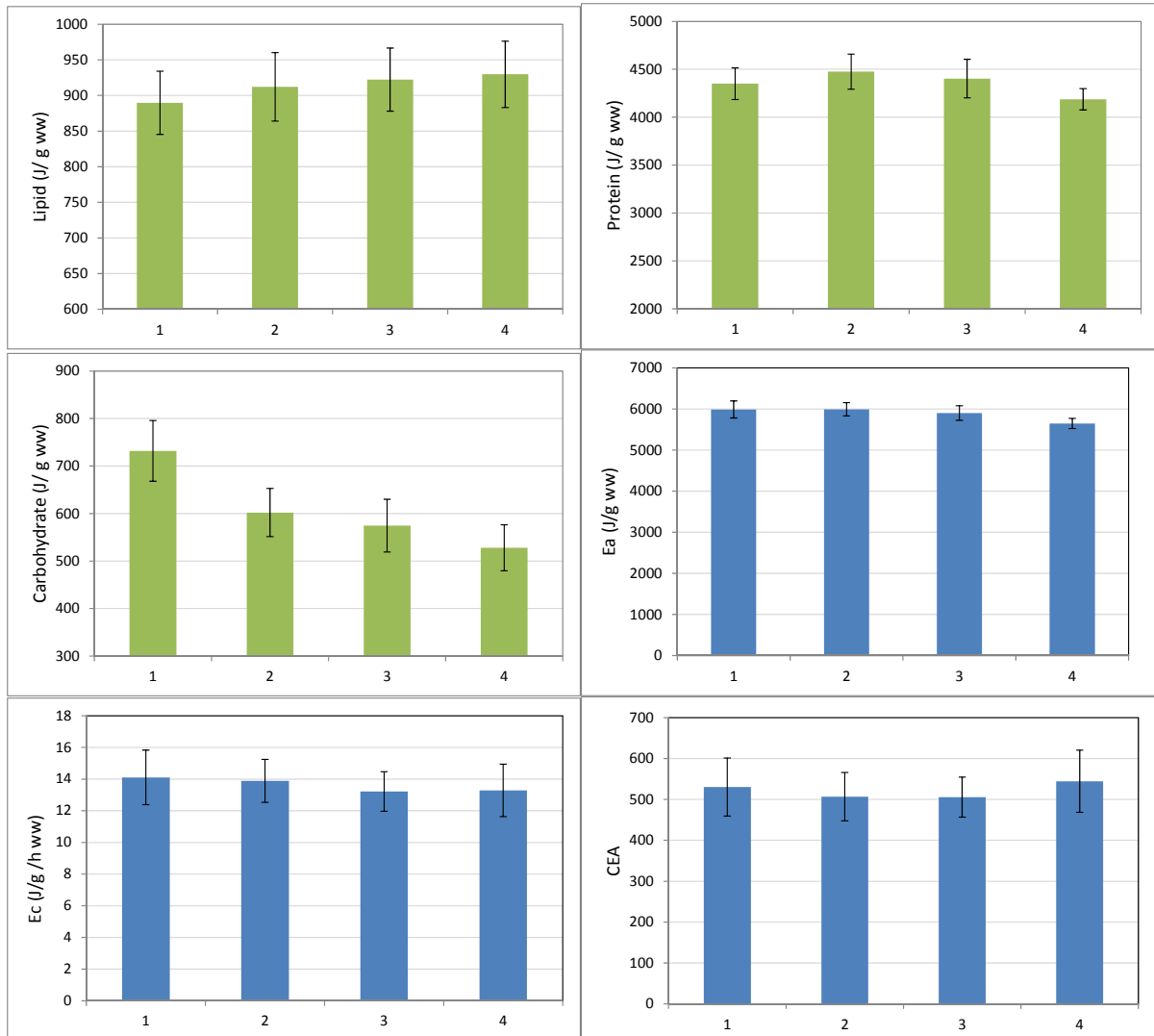


Figure 6. The available energy (E_a) in the digestive gland of mussels calculated from the different fractions: lipid, protein and carbohydrate. The E_a divided by the energy consumed (E_c) was used to calculate the cellular energy allocation (CEA) (mean \pm SE, $n=15$). No statistical significant differences between the groups.

9.6.5 Lysosomal membrane stability

Lysosomal membrane stability (LMS) measured as NRRT, showed differences between the mussel groups (**Figure 7**). Significantly higher NRRT was measured in mussels from group 4 compared to

group 2 ($p < 0.05$). However, of the caged exposed mussels (groups 1-3) no significant differences in NRRT were observed.

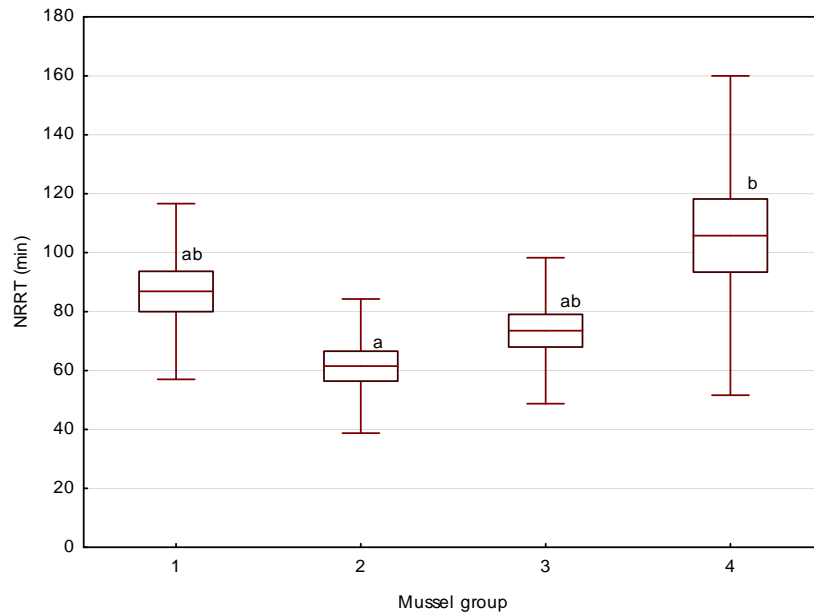


Figure 7. Lysosomal membrane stability measured as neutral red retention time (NRRT) in the lysosomes of mussel haemocytes from the different groups. Mean, standard error (box) and standard deviation (whiskers). Groups labelled with the same letter are not significantly different from each other (Kruskal Wallis ANOVA by ranks, $p < 0.05$, $n = 20$).

9.6.6 Micronuclei formation

There were no significant differences between the numbers of micronuclei found between the different mussel groups (Figure 8). Mean micronuclei frequencies ranged between 3.6 and 4.7 per 1000 cells.

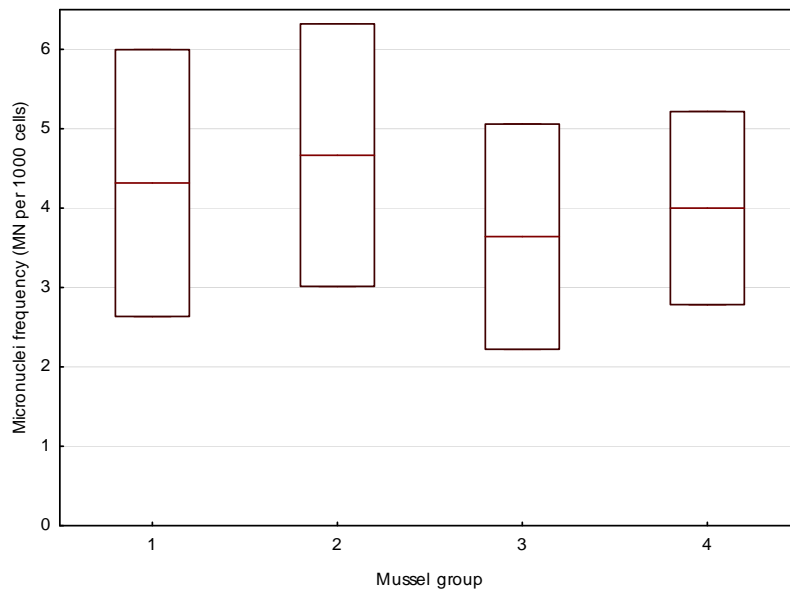


Figure 8. Micronuclei formation in mussel haemocytes from the different groups. No statistical difference between the groups. (mean \pm SE, $n = 15$).

9.6.7 Volume of basophilic cells

The volume of basophilic cells (VvBAS) in the digestive gland tissue was significantly higher in mussels from group 1 ($0.21 \pm 0.02 \mu\text{m}^3/\mu\text{m}^3$, **Figure 9**). For mussels from groups 3 and 4 the VvBAS was below $0.12 \mu\text{m}^3/\mu\text{m}^3$, whilst mussels from group 2 had a mean VvBAS of $0.16 \pm 0.03 \mu\text{m}^3/\mu\text{m}^3$ and was significantly higher than mussels from group 4.

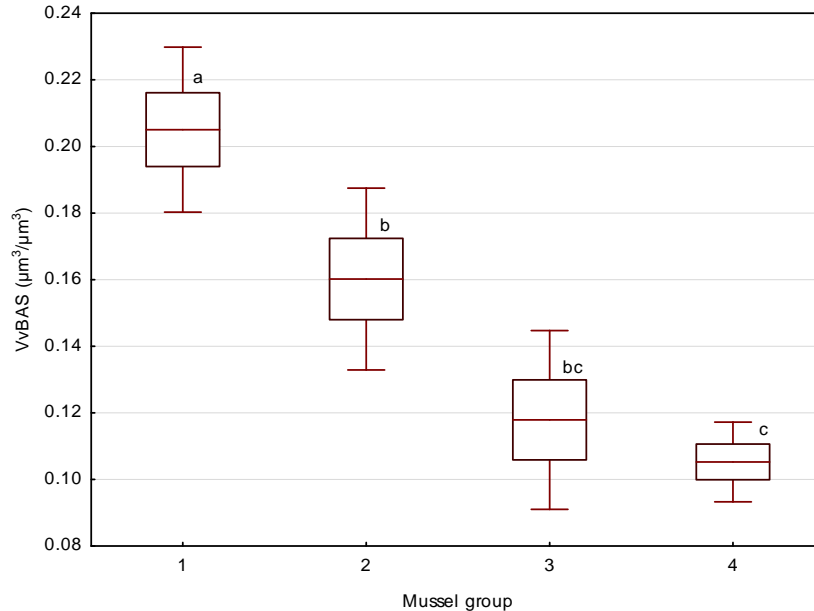


Figure 9. Volume of basophilic cells in mussel digestive gland tissue from the groups indicated. Groups labelled with the same letter are not significantly different from each other (ANOVA, Tukey $p < 0.05$, $n = 5$).

9.6.8 Neutral lipid accumulation

Neutral lipid accumulation was significantly higher in mussels from group 2 compared to the wild reference mussels (group 4, **Figure 10**). No significant difference was found between mussels from the caged groups (Stations 1-3)

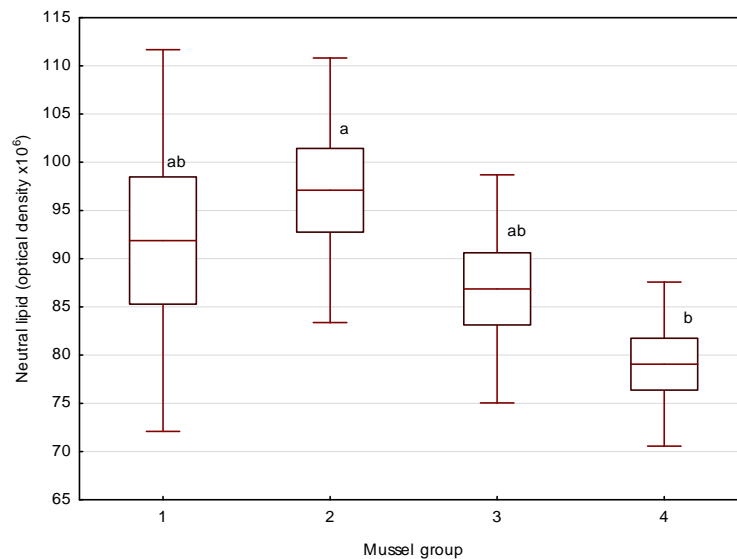


Figure 10. Neutral lipid accumulation in the digestive gland tissue of mussels from the groups indicated. Groups labelled with the same letter are not significantly different from each other (ANOVA, Tukey $p < 0.05$, $n = 10$).

9.6.9 Integrated biological response

The IBR/n index was calculated from star plots of normalised data from all seven biomarker endpoints (Figure 11).

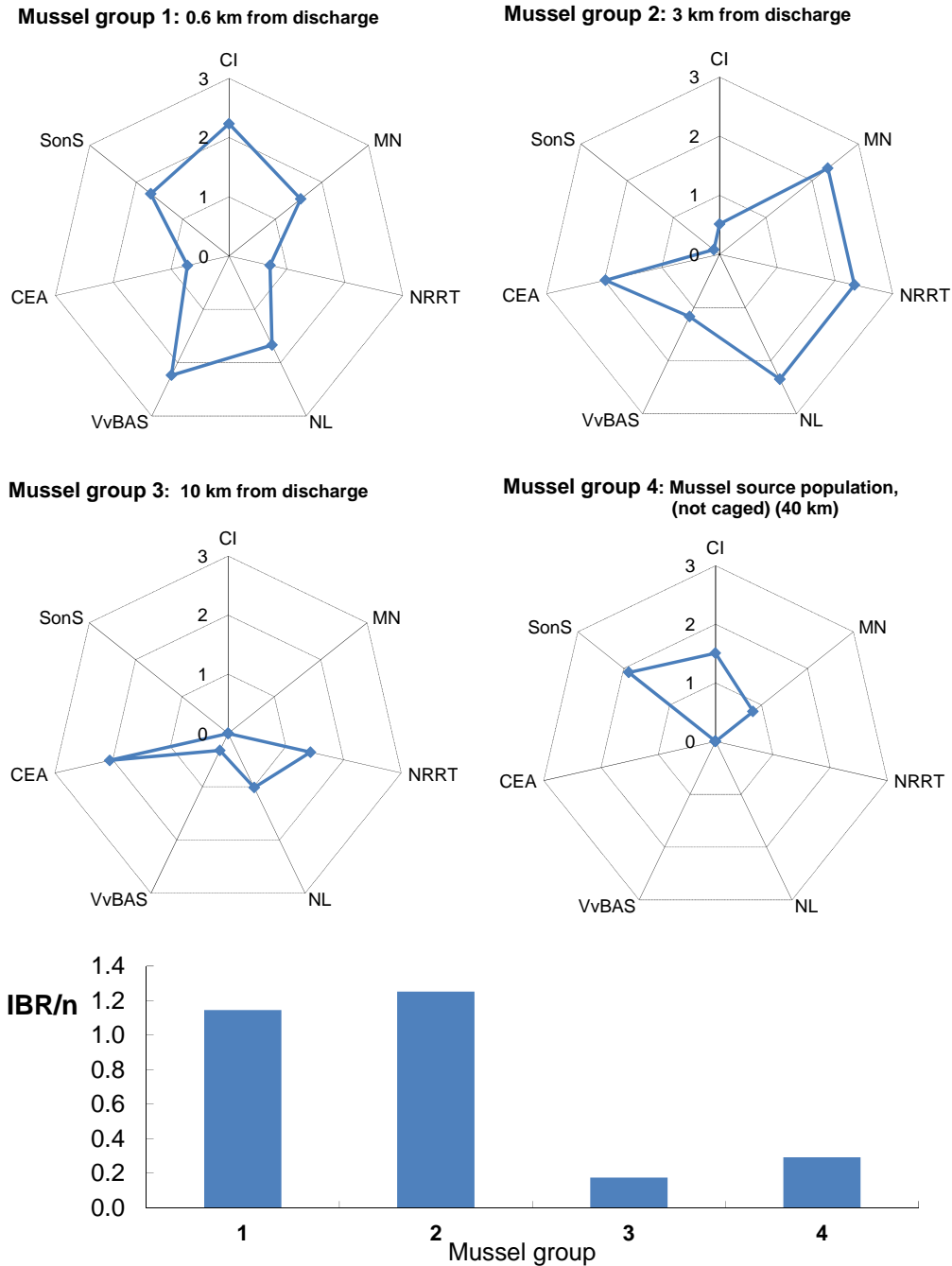


Figure 11. Star plots showing the integrated biological response (IBR/n) in mussels from the three cage transplanted groups (1-3) following 6 weeks exposure. Group 4 represents mussels from the source population. IBR/n calculated from the area generated by the 7 biomarker responses: CI, condition index; MN, micronuclei formation; NRRT, Neutral red retention time; NL, Neutral lipid; VvBAS, volume of basophilic cells; CEA, cellular energy allocation; SonS, Stress on stress.

A higher IBR/n value corresponds to increased stress and impaired health on the mussels). The inverse mean value of CI, NRRT, CEA and SonS was used in the calculation, since for these endpoints a higher mean value indicates good health. The IBR/n was lowest in mussels from groups 3 and 4, which correspond to the caged reference and wild reference mussel groups. The highest IBR/n was calculated in the biomarker responses from mussel groups 1 and 2, which were the caged mussels located approximately 600 m and 3000 m from the discharge outlet (IBR/n = 1.2).

9.7 Discussion

9.7.1 Chemical exposure

The metal analysis showed a clear signal for Al and particularly Fe in the mussel tissues, with mussels from the closest stations having significantly higher Fe body burden concentrations, reducing with distance away from the discharge outlet. Since SVG is an iron ore mine, the detection of Fe into the Bøkfjord may be expected. Therefore, the Fe body burden concentration in the mussels (and the higher turbidity at station 1) confirms that the mussels had been exposed to the mine discharge plume. Therefore, it is suggested that the biological effects observed in the mussels from the two closest stations were at least in part caused by the exposure to the mining effluent.

The relatively low concentration of Fe in the caged reference mussels (group 3) suggests that these mussels have not been significantly exposed to the mining effluent and thus appear to be a suitable reference location for the comparison of the biological effects.

9.7.2 Biological response

The Fe body burden data have indicated that only mussels caged at the two closest stations to the outlet were exposed to the mining effluent. Whilst the biomarker results overall appeared to agree with this, individual biomarkers had varying responses. Single biomarker information will be discussed separately before a final overview through integration of the biological responses.

9.7.3 Individual biomarker responses

The condition index provides important information on the physiological status of the mussel, of which detrimental effects may be caused by either general environmental pressures, such as food availability, seasonal cycle, and/ or chemical exposure. In the mussels caged at Bøkfjorden, the CI was able to differentiate between mussels from group 1 and the other two caged mussels (groups 2 and 3). The reduction in the CI of mussels from group 1 corresponded with the relative distance from the discharge outlet and may be partially explained in terms of exposure to the mine effluent. However, mussels collected from the field population (group 4), had an equally low CI as mussels from group 1, which suggests that the field mussels, taken from the same population as the caged transplanted were experiencing a similar degree of physiological stress. Since contaminant exposure is unlikely in the field reference station, it is possible that food availability may be responsible. However, the CI value in the Bøkfjord mussels was almost double that of transplanted mussels from a similar study where the same method of measuring CI was used (Damiens et al. 2007). The relatively higher CI in the Bøkfjord mussels suggests that these mussels were not starved of food, but differences in food availability may exist enough to discriminate between the groups.

The ability of the mussel to survive in air provides a measure of the physiological status. As described above for CI, the physiological status of the whole mussel can be influenced by environmental pressures such as food availability and/ or chemical exposure as well as habitat adaptation (e.g. intertidal). The results of the SonS were very similar to CI with reduced survival times in mussel groups 1 and 4 compared to mussel groups 2 and 3. Since these biomarkers are closely related, the factors influencing survival are likely to be similar to those that influence CI and vice versa. In

comparison to other field studies where SonS measurements have been taken, mean LT50 values of 9 were recorded in reference mussels (*Mytilus* spp.) from an intertidal habitat on the south east coast of England, reducing to 7 and 5 days in mussels influenced by anthropogenic sources (Hellou and Law, 2003). Furthermore LT50 values ranged from 150 h (6.25 days) to 80 h (3.3 days) in *Mytilus edulis* collected from the coastal waters of the Scheldt estuary, whilst the LT50 reduced to around 55 h (2.3 days) in mussels transplanted into cages within the Scheldt estuary (Wepener et al. 2008). When taking these studies into perspective, the mussels within Bøkfjorden with an LT50 of 12 to 8 days would indicate mussels of a relatively good level of physiological status.

Cellular energy allocation is a physiological biomarker providing information on the metabolic processes of the organism. In the mussel groups from Bøkfjorden there were no significant differences in any of the CEA parameters between the mussel groups showing no effects of exposure to the mining effluent. From the energy constituents, protein was by far the largest making up 70-75% of the available energy supply, with carbohydrates and lipids sharing the remaining 25-30%. Low to intermediate levels of contaminant exposure is known to promote proteins due to the detoxification processes, whilst low levels of carbohydrate and lipids could suggest lack of food availability (Erk et al. 2011). However, since no differences occur between the mussel groups these explanations are not likely to be responsible in the mussels from this study. Overall the CEA between 500 and 550 for all mussel groups implies that the mussels had a positive energy budget using less energy than they had available, which would suggest that all groups were in reasonably good health.

The use of NRRT for the measurement of LMS is one of the most widely used biomarkers in aquatic monitoring. Partly due its widespread use there has been numerous field and laboratory study data collected for *Mytilus* spp. that has been used to compile various assessment criteria (ICES/OSPAR, 2009). From these assessment criteria mussels are considered in good health if their NRRT is above 120 min, stressed but compensating if between 120 and 50 min and severely stressed and probably exhibiting pathology if the value is below 50 min. Mean NRRT of the mussel groups from Bøkfjorden were between 60 and 110 min and therefore fall into the category described as stressed but compensating. It is interesting that even the mussels collected from the source reference group (group 4) did not have a mean NRRT above 120 min and were thus considered to be experiencing stress. There was no significant difference between the caged mussels (groups 1 to 3) although generally they had NRRT values lower than the source reference group (group 4). This may be the result of the additional stress on the mussels through caging and transplantation into a new environment.

The mean MN frequency in the mussel groups was within a relatively narrow range from 3.6 to 4.7 per 1000 cells with no significant differences between the groups. However, suggested assessment criteria for MN have been established using data available on studies of mussels from the North Sea, Northern Atlantic and the Mediterranean, calculating the empirical 90% quantile as background/threshold level of micronuclei incidences (ICES WGBEC, 2010). From this report, based on over 600 data points, background levels in *M. edulis* held in cages for 4 to 6 weeks were calculated as 4.06 MN per 1000 cells, with MN incidence above 4.06 considered as an effect response. Using this assessment criteria mussel groups 1 and 2 have an MN above this threshold, which may be considered to demonstrate an effect response, whilst mussel groups 3 and 4 are within background levels. However, the MN of mussel groups 1 and 2 were only marginally above the threshold value and therefore the degree of DNA damage experienced by these mussels was considered to be minimal.

Digestive cell loss, measured as VvBAS in the digestive gland is considered a sensitive indicator of general stress (Zaldibar et al. 2007). VvBAS values below $0.10 \mu\text{m}^3/\mu\text{m}^3$ have been considered to indicate a healthy condition; whereas VvBAS values higher than $0.12 \mu\text{m}^3/\mu\text{m}^3$ indicate a stress situation (Marigómez et al. 2006). The mussel groups 1 and 2 with VvBAS above the $0.12 \mu\text{m}^3/\mu\text{m}^3$ threshold clearly indicate a stress response, whilst those from groups 3 and 4 were between the 0.12 and $0.10 \mu\text{m}^3/\mu\text{m}^3$ suggesting some stress above typical background. However, it should be pointed out that these threshold levels were mostly based on native field mussel populations in the Adriatic/

Mediterranean area and likely to differ slightly to those of caged mussels located within the Arctic Circle, although to what extent is currently not known.

The accumulation of NL within the digestive gland cells of the mussels is considered to be a stress response particularly for organic chemicals (Lowe and Clarke, 1989, Cajaraville et al. 1992). In our study no significant differences were found between NL of caged mussels with distance from the mining effluent. However, differences were found between the source reference group and the caged mussel groups, which may suggest that the difference between the groups may not be related to chemical exposure but other sources of environmental stress. Currently no assessment criteria are available for lipofuscin accumulation in field mussels.

9.7.4 Integrated biological response

The integrated biological response (IBR/n) was used to provide a visual integration of all seven biomarkers, showing the contribution of each individual biomarker to the group IBR/n score. Higher the IBR/n indicates increased biological response and poorer health status of the mussel. The position of the biomarkers within the star plots is particularly important since they can provide different IBR/n scores with different arrangements. For this reason it was important that the biomarkers that measure similar physiological and/or cellular functions are grouped together. In the present study: SonS, CI and CEA measured general physiology and metabolism; NL, VvBAS and NRRT measured cellular responses; and MN measured genotoxicity, these biomarkers were grouped together accordingly.

The calculated IBR/n was lowest in the two reference groups (3 and 4) with IBR/n of 0.17 and 0.29 respectively. For source reference group (4), the largest biomarker contributions to the IBR/n were from the physiological biomarkers, SonS and CI. These responses were unlikely to be due to chemical exposure but environmental factors such as food availability and competition. The highest IBR/n of 1.25 and 1.15 were recorded in mussel groups 2 and 1 respectively. However, the biomarkers contributing to these respective scores were quite different. For mussel group 1, CI, SonS and VvBAS were the main contributors, whilst those contributing for group 2 were MN, NRRT, NL and CEA.

When interpreting the IBR/n one should be somewhat cautious. For example, the MN data for the different groups revealed very little difference between the groups. However despite this, the standardised biomarker values on the star plots were much higher in group 2 and 1 than 3 and 4. A similar phenomenon was observed for CEA with groups 2 and 3 receiving the higher contributions. Broeg and Lehtonen (2006), have highlighted that the IBR/n is an oversimplification of very complex exposure situations within the field, and that the IBR/n result should not be taken at "face value" but rather as a tool to direct further actions. With this in mind it appears that mussels from groups 1 and 2 were the most affected, although an IBR/n of 1.2 would suggest only relatively low biological effects, particularly when looking at the individual biomarker responses behind these calculated indices. For comparison to other mussel biological effects monitoring programmes where IBR/n has been used, a score of 3.29 was shown in mussels caged 500 m from an offshore produced water discharge indicating low to moderate biological effects, whilst IBR/n of 1 to 2 was found in mussels 1000 m away from the point source (NIVA report 6237-2011). However, the calculated IBR/n score is greatly influenced by the type and number of biomarkers used, and since this often changes between biomonitoring studies, it is no possible to directly compare the IBR/n scores.

9.7.5 Other potential sources of contaminant input into the fjord

Whether the effects exhibited by the mussels are a result of exposure to the mine effluent are not entirely clear since other source of contaminant input into Bøkfjorden are known to exist in the vicinity of Kirkenes. For example, sediments in the Kirkenes harbour area are reported to be contaminated with elevated concentrations of copper, PAH and TBT (Norconsult, 2008). In the present study, copper analysis of the mussel tissue did not indicate any significant bioaccumulation

that could be attributed to exposure from the contaminated sediment, although TBT and PAH concentration were not measured.

An additional source of contaminant input in to the fjord is from the local discharge of untreated sewage in the surface waters of the harbour area. It is however unclear whether there is any influence of the sewage discharge at the depth where the mussels were located (i.e. 30 m). Although it is anticipated that the sewage will mainly be restricted to the surface waters and not directly influence the mussels, the effects of exposure to sewage related chemicals such as endocrine disruptors cannot be completely excluded.

9.8 Conclusions

The Fe body burden was significantly higher in mussels at the two closest stations and particularly at the closest station indicating that these mussels had been exposed to the discharge effluent from the Sydvaranger mine (also supported by turbidity measurements at group 1 location). This exposure may have contributed to the impaired health of the mussels positioned at the two closest sites, although other sources of contaminants within Bøkfjorden have been previously identified

Overall, the IBR/n results were in good agreement with the location of the stations in relation to the distance from the mine discharge outlet. The biomarker responses were not severe but did exhibit effects for some of the biomarkers resulting in a higher IBR/n in the mussels closest to the outlet. However, based on the individual biomarker responses the overall biological effects measured in the exposed mussels were considered low.

10. Sammenfatning og konklusjoner

I denne rapporten har en med ulike tilnærminger undersøkt mulige effekter av utslippene til SVG i Bøkfjorden. Undersøkelselementene belyser ulike sider av effektbildet. Turbiditetsmålingene, SPI-undersøkelsene og burforsøkene belyser effekter direkte i felt og kan også si noe om den romlige fordelingen av de ulike effekter, mens giftighetstestene som er gjort i laboratoriet belyser en mulig påvirkning indirekte.

10.1 Feltundersøkelser

Turbiditetsmålingene er den parameteren som gir den største romlige oppløsningen. Resultatene fra disse målinger sier noe om påvirkningen i ulike dyp og i ulik avstand fra utslippet. Hovedbildet her er at brakkvannslaget (ned til ca. 3 m) ikke er påvirket av utslippet. Det følger av dette at heller ikke tidevannssonen er påvirket av partikler i utslippet. Et vannvolum under brakkvannsiktet er også upåvirket. Dette vannvolumet har en dybde på fra 20 til ca. 50 m ut til ca. 3 km fra utslippet, hvorefter det upåvirkede vandtypet blir ennå større. Dette betyr at den eufotiske sone (der det er primærproduksjon) i hovedsak er upåvirket av utslippene. Man kan derfor ikke forvente noen redusert primærproduksjon som følge av lyssvekking i den eufotiske sone.

Målingene tyder på at avgangspartiklene synker mer og mer ut av vannmassene over terskelnivå (dvs. ca. 100 m) dess lenger en kommer ut i fjorden. Tykkelsen på dette bunnlaget er i størrelsesorden 50-150 m og er vesentlig tykkere enn det en normalt ser i fjorder uten partikkelutslipp og tyder på at turbiditeten i dette vannvolumet er forårsaket av andre forhold enn naturlige prosesser ved bunnen. Tykkelsen på dette bunnlaget antyder at en også utenfor Reinøya har en svak påvirkning fra gruvedriften. Ved turbiditetsverdier på mindre enn 1 FTU, slik en ser i dette bunnlaget, begynner man imidlertid å nærme seg det som må oppfattes som bakgrunnsverdier. I dette området er påvirkningen trolig er marginal, noe som bekreftes av SPI-undersøkelsene, idet en på de mer fjerntliggende stasjoner utenfor Reinøya observerte gode forhold for bunnfauna. Oppsummert kan en si at de dypere deler av området innenfor Reinøya i hovedsak er klart påvirket av avgang med negative konsekvenser for bunnfauna. Utenfor Reinøya har en et vannvolum ved bunnen med en tykkelse på minst 50 som er marginalt partikkelpåvirket, men uten at dette over tid har hatt konsekvenser for bunnfaunaen.

I Bøkfjorden er det ingen markert terskel før en kommer 15-17 km ut fra Kirkenes. I dette området grunner fjorden opp i en terskel på ca. 100 m som begrenser vannutskiftningen mellom de dypere deler av Bøkfjorden og Varangerfjorden utenfor. Partikler som synker dypere enn ca. 100 m før de når ut til terskelen vil derfor i hovedsak forbli inne i Bøkfjorden og sedimenterer der. Store vannutskiftninger kan imidlertid løfte bunnvann opp over terskelnivå.

Helseparameterene som ble studert ifm. burforsøkene med blåskjell er uspesifikke i forhold til de aktuelle påvirkningskilder. Metallanalysene som ble gjennomført viser at nivåene som ble observert i skjellene i hovedsak er svært lave (cf. Moldvær et al. 1997 og Knutzen og Skei 1990). Med unntak av jern på stasjon 1 er metallnivåene som forventet i et fjordområde uten punktkilder. Burforsøkene tyder også på at det i 30 m dyp 0,6 km fra utslippet opptrer partikler i vannet som trolig stammer fra utslippet til SVG. På stasjonen 3 km fra utslippet kunne ikke turbiditetsmålingene påvise noen partikkelpåvirkning i 30 m dyp. Heller ikke jernanalysene, som gir et integrert bilde av påvirkningen, antyder noen klar påvirkning fra utslipp fra SVG fordi Fe-nivåene på denne stasjonen er som forventet i områder uten klare punktkilder (cf. Knutzen og Skei 1990). Den integrerte responsindeksen indikerer at helsetilstanden til skjellene, samlet sett var noe svekket på de to stasjonene nærmest utslippet til SVG, men ikke på stasjonen 10 km fra utslippet. Responsen for hver enkelt biomarkør var noe forskjellig på de to nærmeste stasjonene selv om den integrerte responsen var relativt lik (**Figure 11**).

Dette kan være en indikasjon på at det ligger noe ulike påvirkningsmekanismer bak. Basert på responsen av enkeltbiomarkører anses likevel den biologiske effekten å være liten. Vi anslår at det er sannsynlighetsovervekt for at hovedpåvirkningskilden på de to nærmeste stasjonene er utslippet til SVG, men vi erkjenner at også andre påvirkningsfaktorer kan ha bidratt. Biomarkøranalysene bekrefter således at hovedinfluensområdet for utslippene fra SVG er området fra Kirkenes og ut til omtrent Reinøya (ca. 6 km fra utslippspunktet).

10.2 Giftighetstester

Et relativt omfattende testbatteri er benyttet. Testene omfatter akutttester (organismer testet: piggvar, strandkrabbe, copepoder og fjæremark) med dødelighet som endepunkt og tester som baserer seg på adferd (fjæremark-testen) og registrering av vekst (*Skeletonema costatum*). Biomarkørundersøkelsene med blåskjell har også et sublethalt endepunkt. Testene dekker viktige hovedgrupper av organismer i en fjord, men er med unntak av blåskjell og *Skeletonema* ikke typisk stedsspesifikke for Bøkfjorden, men er valgt ut fordi de i hovedsak, og med unntak for testen med strandkrabbe, må oppfattes som standardtester.

Testen med piggvar, strandkrabbe, copepoder og fjæremark viser alle at sediment fra utslippsområdet og avgang som inneholder realistiske konsentrasjoner med Magnafloc 10 (polyakrylamid) og Magnfloc LT38 (polyDADMAC) ikke gir akutt giftighet. For disse organismene ble det heller ikke observert akutt dødelighet ved tilsetning av 10x realistiske konsentrasjoner av Magnafloc 10 og 100x realistisk konsentrasjoner av Magnafloc LT38 til avgangsmateriale/sediment. For børstemark ble det imidlertid observert at ekstremkonsentrasjoner i test førte til at marken ikke gravde seg ned i sedimentet. Resultatene indikerer at utslippene av polyakrylamid og polyDADMAC fra SVG under normale driftsforhold ikke gir akutt-toksiske effekter i resipienten.

Resultatene viser mer konkret at sedimentene selv i nærområdet til utslippet, dvs. med den restmengde produksjonskjemikalier som normalt havner på bunnen fra avgangsdeponeringen, ikke fører til akutt dødelighet hos fjæremark og heller ikke fører til avvikende adferdsresponsen slik en ville antatt dersom sedimentets fysiske/kjemiske egenskaper var uforenelig med normal adferd. Forsøkene betyr likevel nødvendigvis ikke at bunndyr i sin alminnelighet trives i sedimentene. Resultatene fra SPI-undersøkelsene tyder også på ugunstige forhold for bunndyr i utslippets nærområde. Dette skyldes trolig nedslammings effekter og det at avgangen inneholder svært lite organisk karbon. Selv med normal primærproduksjon og sedimentasjon (ca. 1-3 mm/år) vil bunnsstratet bestå av materiale med et svært lavt karboninnhold og dermed gi dårlige vekstbetingelser for bunndyr.

I testen med algen *Skeletonema costatum* ble det ikke observert veksthemming i vann ekstrahert fra sediment fra utslippsområdet og heller ikke i vann ekstrahert fra avgang som inneholder realistiske konsentrasjoner med Magnafloc 10 (polyakrylamid) og Magnfloc LT38 (polyDADMAC). Kun ved tilsetning av Magnfloc LT38 opp mot 32-56x av oppgitt realistisk konsentrasjon i avgangen ved normal drift ble det utløst tilstrekkelig med Magnfloc LT38 til at en fikk veksthemming. Testene tyder på at opptil 99.8 % av innblandet Magnfloc LT38 er bundet i gruveavgangen. Test med Magnfloc LT38 alene ga en EC50 på henholdsvis 1,9 mg/l og 1.0 mg/l. Magnfloc 10 påvirket ikke veksten til *Skeletonema costatum* negativt, hverken alene eller i kombinasjon med normalkonsentrasjoner av Magnfloc LT38.

Totalt tyder giftighetstestene på at det under normale driftsforhold ikke vil opptre akutt-toksiske effekter selv i utslippets nærområde. De testene som har subletale endepunkt (*Skeletonema*-testen, og fjæremark-testen) tyder heller ikke på at Magnafloc 10 (polyakrylamid) og Magnfloc LT38 (polyDADMAC) gir miljøeffekter ved slike betingelser.

10.3 Influensområdet

Totalt sett indikerer de gjennomførte undersøkelser at hovedinfluensområdet for utslippene fra SVG er området i Bøkfjorden innenfor Reinøya, men at det i de dypere deler av vannsøylen utenfor Reinøya opptrer partikkeltetthet i vannet som ligger marginalt over det en antar er bakgrunn. Det ser imidlertid ikke ut til at forekomst av slike partikler fører til en sedimentering som gir uheldige effekter på bunnfauna.

11. Referanser

- Baršienė J, Schiedek D, Rybakovas A, Šyvokienė J, Kopecka J, Förlin L. 2006. Cytogenetic and cytotoxic effects in gill cells of the blue mussel *Mytilus* spp. from different zones in the Baltic Sea. *Marine Pollution Bulletin* 53: 469-478.
- Beliaeff B, Burgeot T. 2002. Integrated biomarker response: a useful tool for ecological risk assessment. *Environ Toxicol Chem.* 21: 1316-1322.
- Berge, J.A., Beylich, B., Gitmark, J.K. og Ledang, A.B., 2011. Overvåking av Bøkfjorden – forundersøkelse 2010. Turbiditetsmålinger, bløtbunnsfauna, hardbunnsorganismer og forekomst av akrylamid. NIVA-rapport 6116-2011, 68s.
- Bjerkeng, B., 1999. Vurdering av vannutskiftning i Langfjorden ved Kirkenes. Betydning av tidligere avgangsdeponering i området. NIVA-rapport 4121, 102s:
- Broeg K, Lehtonen KK. 2006. Indices for the assessment of environmental pollution of the Baltic Sea coasts: integrated assessment of the multi-biomarker approach. *Marine Pollution Bulletin* 53: 508-522.
- Brooks S, Harman C, Grung M, Farnen E, Ruus A, Vingen S, Godal B, Barsiene J, Andreikenaite L, Skarpeðinsdottir H, Liewenborg B, Sundt R. 2011. Water Column Monitoring of the Biological Effects of Produced Water from the Ekofisk Offshore Oil Installation from 2006 to 2009. *J Toxicol Env Hlth A*;74:582-604.
- Cajaraville MP, Marigómez JA, Díez G, Angulo E. 1992. Comparative effects of the water accommodated fraction of three oils on mussels - 2. Quantitative alterations in the structure of the digestive tubules. *Comp. Biochem. Contam. Toxicol.* 19: 17-24.
- Damiens G, Gnassia-Barelli M, Loque`s F, RomeóM, Salbert V. 2007. Integrated biomarker response index as a useful tool forenvironmental assessment evaluated using transplanted mussels. *Chemosphere* 66: 574-583.
- De Coen WM, Janssen CR. 1997. The use of biomarkers in *Daphnia magna* toxicity testing: IV. Cellular energy allocation: a new methodology to assess the energy budget of toxicant-stressed *Daphnia* populations. *J. Aquat. Ecosys. Stress. Recov.* 6, 43-55.
- De Coen WM, Janssen CR. 2003. The missing biomarker link: relationships between effects on the cellular energy allocation (CEA) biomarker of toxicant stressed *Daphnia magna* and corresponding population characteristics. *Environ. Toxicol. Chem.* 22, 1632-1641.
- Erk M, Muysen BTA, Ghekiere A, Janssen CR. 2008. Metallothionein and cellular energy allocation in the estuarine mysid shrimp *Neomysis integer* exposed to cadmium at different salinities. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.* 357: 172-180.

- Erk M, Ivanković D, Strižak Ž. 2011. Cellular energy allocation in mussels (*Mytilus galloprovincialis*) from the stratified estuary as a physiological biomarker. *Marine Pollution Bulletin*, 62: 1124-1129.
- Gagnon C, François Gagné F, Turcotte P, Saulnier I, Blaise C, Salazar MH, Salazar SM. 2006. Exposure of caged mussels to metals in a primary-treated municipal wastewater plume. *Chemosphere* 62: 998-1010.
- Gorbi S, Virno-Lamberdi C, Notti A, Benedetti M, Fattorini D, Moltedo G, Regoli F. 2008. An ecotoxicological protocol with caged mussels, *Mytilus galloprovincialis*, for monitoring the impact of an offshore platform in the Adriatic sea. *Mar Environ Res.* 65:34-49.
- Hellou J and Law RJ. 2003. Stress on stress response of wild mussels, *Mytilus edulis* and *Mytilus trossulus*, as an indicator of ecosystem health. 126: 407–416.
- Hylland K, Tollefsen KE, Ruus A, Jonsson G, Sundt RC, Sanni S, Roe Utvik TI, Johnsen S, Nilssen I, Pinturier L, Balk L, Barsiene J, Marigomez I, Feist SW, Borseth JF. 2008. Water column monitoring near oil installations in the North Sea 2001-2004. *Mar. Pollut. Bull.* 56: 414-429.
- ICES/OSPAR, 2009. Report of the joint ICES/ OSPAR study group on integrated monitoring contaminants and biological effects (SGIMC) ICES CM 2009:30.
- ICES WGBEC 2010. Baršienė J, Rybakovas A, Lyons B, Sanni S, Brooks S, Martínez-Gómez C. 2010. Micronucleus assay as a tool for assessing cytogenetic/DNA damage in marine organisms. Draft guidelines.
- Knutzen, J, Skei, J., 1990. Kvalitetskriterier for miljøgifter i vann, sediment og organismer, samt foreløpige forslag til klassifikasjon av miljøkvalitet. NIVA-rapport 2540, 139s.
- Livingstone DR, Chipman JK, Lowe DM, Minier C, Mitchelmore CL, Moore MN, Peters LD, Pipe RK. 2000. Development of biomarkers to detect the effects of organic pollution on aquatic invertebrates: recent molecular, genotoxic, cellular and immunological studies on the common mussel (*Mytilus edulis*, L.) and other mytilidids. *International Journal of Environmental Pollution.* 13: 56-91.
- Lowe DM, Clarke KR. 1989. Contaminant-induced changes in the structure of the digestive epithelium of *Mytilus edulis*. *Aquat. Toxicol.* 15:345-358.
- Lowe DM, Pipe RK, 1994. Contaminant induced lysosomal membrane damage in marine mussel digestive cells: an in vitro study. *Aquatic Toxicology* 30: 357–365.
- Lowe DM, Fossato VU, Depledge MH. 1995. Contaminant-induced lysosomal membrane damage in blood cells of mussels *Mytilus galloprovincialis* from the Venice Lagoon: An in vitro study. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 129: 189-196.
- Marigómez I, Soto M, Cajaraville MP, Angulo E, Giamberini L. 2002. Cellular and subcellular distribution of metals in molluscs. *Micros Res Techn*, 56:358-392.

- Marigómez I, Soto M, Cancio I, Orbea A, Garmendia L, Cajaraville MP. 2006. Cell and tissue biomarkers in mussel, and histopathology in hake and anchovy from Bay of Biscay after the Prestige oil spill (Monitoring Campaign 2003). *Marine Pollution Bulletin* 53: 287-304.
- Moore MN, Allen JI, McVeigh A. 2006. Environmental prognostics: an integrated model supporting lysosomal stress responses as predictive biomarkers of animal health status. *Marine Environmental Research*. 61: 278-304.
- Moore MN. 1988. Cytochemical responses of the lysosomal system and NADPH-ferrihemoprotein reductase in molluscan digestive cells to environmental and experimental exposure to xenobiotics. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 46: 81-89.
- Molvær J., J. Knutzen, J. Magnusson., B. Rygg, J. Skei og J. Sørensen. 1997. Klassifisering av miljøkvalitet i fjorder og kystfarvann. SFT-veiledning nr. 97:03, TA-1467/1997.
- Morton B. 1983. Feeding and digestion in bivalvia. In: Saleuddin ASM, Wilburg M (Eds.) *The Mollusca n° 5*, Academic Press, New York, 65-147 pp.
- NIVA report, 2011. Water column monitoring 2011: Gullfaks C platform Final report NIVA 6237-2011.
- Nilsson, H.C., Rosenberg, R. (1997) Benthic habitat quality assessment of an oxygen stressed fjord by surface and sediment profile images. *Journal of Marine Systems* 11:249-264.
- Nilsson, H.C., Rosenberg, R. (2006) Collection and interpretation of Sediment Profile Images (SPI) using the Benthic Habitat Quality (BHQ) index and successional models. NIVA Rapport 5200-2006, 26s.
- Norconsult 2008. Kartlegging av forurensninger i sedimentet utenfor Kimek AS, Trinn 2 Risikovurdering. Rapport fra Norconsult, opp drag nr. 5009358, 20s.
- Olsen GH, Sva E, Carroll J, Camus L, De Coen W, Smolders R, Øveraas H, Hylland K. 2007. Alterations in the energy budget of Arctic benthic species exposed to oil-related compounds. *Aquat. Toxicol.* 83, 85-92.
- Oug, E., Cochrane, S.K.J., Sundet, J.H., Norling, K., Nilsson H.C., Vansteenbrugge, L. 2010. Effekter av kongekrabben på økosystemet på bløtbunn: Undersøkelser i Varanger 2006-2009. NIVA rapport nr.6037, 12s.
- Pearson, T.H., Rosenberg, R. (1978). Macrobenthic succession in relation to organic enrichment and pollution of the marine environment. *Oceanogr Mar Biol Ann Rev* 16:229-311.
- Regoli F, 1992. Lysosomal responses as a sensitive stress index in bio-monitoring heavy metal pollution. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 84: 63-69.
- Rosenberg, R., Blomqvist, M., Nilsson, H.C., Cederwall, H., Dimming, A. (2004) Marine quality assessment by use of benthic species-abundance distributions: a proposed new protocol within the European Union Water Framework Directive. *Marine Pollution Bulletin* 49:728-739

- Skaare, B.B., Oug, E. og Nilsson, H.C. 2007. Miljøundersøkelser i fjordsystemet utenfor Kirkenes i Finnmark 2007. Sedimenter og bløtbunnsfauna. NIVA-rapport nr 5473, 68s.
- Smolders R, Bervoets L, De Coen W, Blust R. 2004. Cellular energy allocation in zebra mussels exposed along a pollution gradient: linking cellular effects to higher levels of biological organization. *Environ. Pollut.* 129, 99–112.
- Smit, M., Holthaus, K. I.E, Trannun, H.C., Neff, J.M., Kjeilen-Eilertsen, G., Jak, R. G., Singaas, I., Huijbregts, M. A.J. and Hendriks, A.J., 2008. Species sensitivity distribution for suspended clays, sediment burial, and grain size change in the marine environment. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 27 (4), 1006-1012.
- Verslycke T, Janssen CR. 2002. Effects of a changing abiotic environment on the energy metabolism in the estuarine mysid shrimp *Neomysis integer* (Crustacea: Mysidacea). *J Exp Mar Biol Ecol.* 279: 61-72.
- Viarengo A, Canesi L, Pertica M, Mancinelli G, Accomando R, Smaal AC, Orunesu M. 1995. Stress on Stress Response: A Simple Monitoring Tool in the Assessment of a General Stress Syndrome in Mussels. *Marine Environmental Research*, 39: 245-248.
- Viarengo A, Dondero F, Pampanin DM, Fabbri R, Poggi E, Malizia M, Bolognesi C, Perrone E, Gollo E, Cossa GP. 2007. A biomonitoring study assessing the residual biological effects of pollution caused by the Haven wreck on marine organisms in the Ligurian Sea (Italy). *Archive of Environmental Contamination and Toxicology* 53, 607-616.
- Wepener V, Bervoets L, Mubiana V, and Blust R. 2008. Metal exposure and biological responses in resident and transplants blue mussels (*Mytilus edulis*) from the Scheldt estuary. *Marine pollution bulletin* 57:624-631.
- Weibel ER. 1979. *Stereological Methods*. Academic Press, London 415 pp.
- Zaldibar B, Cancio I, Marigómez I. 2007. Reversible alterations in epithelial cell turnover in digestive gland of winkles (*Littorina littorea*) exposed to cadmium and their implications for biomarkers measurements. *Aquatic Toxicology*, 81:183-196.
- Zorita I, Ortiz-Zarragoitia M, Soto M, Cajaraville MP. 2006. Biomarkers in mussels from a copper site gradient (Visnes, Norway): An integrated biochemical, histochemical and histological study. *Aquatic Toxicology* 78: S109–S116.

12. Vedlegg

12.1 Geografiske koordinater for stasjoner der det ble foretatt turbiditetsmålinger i 2011

Stasjon	Geografiske koordinater	Avstand fra utslippspunktet (km)
T1	N69 44.177 E30 02.678	0,25
T2	N69 44.252 E30 04.206	0,95
T3	N69 44.309 E30 05.069	1,5
T4	N69 44.734 E30 03.107	1,3
T5	N69 44.654 E30 04.446	1,5
T6	N69 44.782 E30 05.320	2,1
T7	N69 45.126 E30 03.922	2,1
T8	N69 45.090 E30 04.680	2,3
T9	N69 45.063 E30 05.318	2,5
T10	N69 45.440 E30 04.477	2,8
T11	N69 45.414 E30 05.349	3,0
T12	N69 45.864 E30 05.425	3,7
T13	N69 46.254 E30 07.327	5,0
T13b	N69 46.763 E30 09.924	6,8
T14	N69 46.203 E30 05.566	4,4
T15	N69 46.699 E30 05.379	5,2
T16	N69 47.195 E30 04.802	6,0
T17	N69 47.545 E30 04.720	6,6
T18	N69 48.262 E30 05.437	8,0
T19	N69 49.127 E30 07.540	9,9
T20	N69 51.898 E30 06.913	14,8
T21	N69 53.188 E30 07.692	17,2
T22	N69 52.190 E30 01.075	18#
TX	N69 44.464 E30 03.426	0,85
TL	N69 44.028 E30 06.075	2,1
TLN	N69 41.658 E29 54.421	5,4
TLS	N69 40.968 E29 54.935	6,5
TPN	N69 43.458 E30 06.408	2,6#
TPS	N69 42.882 E30 05.553	3,6#
TRØ	N69 48.212 E30 09.001	9,9#
TSN	N69 43.523 E30 00.885	1,6
TSS	N69 42.397 E29 56.952	4,9
Utslippspunkt	N69 44.052 E30 02.843	0*

*Turbiditetsmålingene ble gjennomført i en viss avstand (<50 m) fra selve utslippsarrangementet.

#Korteste avstand over vann

12.2 HMS.dataplad for Magnafloc 10

HMS-datablad

i henhold til Direktiv 1907/2008/EU



Utgave: 1.0 (NO)
Dato / oppdatert: 04.04.2008
Trykkdato: 20.05.2008

MAGNAFLOC 10

1. Identifikasjon av kjemikaliyet og ansvarlig firma

Betegnelse/Handelsnavn: **MAGNAFLOC 10**
Anvendelse: Flokkuleringsmiddel
Firma: Ciba Scandinavia AB
Postboks 184 Nordstrand
NO-1112 Oslo
Norge
Tel +47 22 44 59 00
E-mail: PSR_WPT@cibasc.com
Kontakt i nødtilfelle: +41-61-632-0779

2. Viktigste faremomenter

Stoffet er klassifisert som giftig (kreftramkallende grunnet innhold av mer enn 0.01% akrylamid) i henhold til norsk lov. Norge har i medhold av EØS-avtalen avvikende klassifisering og merking av enkelte kjemikalier i forhold til EU.



Giftig.

R-setning(er):
R45 Kan forårsake kreft.

Farer:
Kan forårsake lett hudirritasjon, spesielt ved gjentatt eller langvarig eksponering.
Kan forårsake en viss øyeirritasjon som bør opphøre etter at produktet er fjernet.
Kan forårsake en viss iritasjon av luftveiene ved innånding av støv.
Denne typen produkt har en tendens til å danne støv hvis det håndteres hardhendt. Det brenner ikke lett, men som for så mange organiske pulvere kan det dannes brennbare støvsyker i luft.
Unngå at det dannes støv og og hold det unna antennelseskilder.
Svært glatt når det er vått.

3. Opplysninger om kjemisk sammensetning

Kjemisk karakterisering:
Anionisk polyakrylamid

Fareutløsere	Klassifisering*	Innhold (%)
CAS-Nr.: 79-06-1 EG-Nr.: 201-173-7	Akrylamid T R 45, 46, 20/21, 25, 36/38, 43, 49/23/24/25, 62	0,05

*) Ordlyden av faresymboler og R-setninger er spesifisert i kapittel 16 i de tilfeller farlige ingredienser er nevnt.

Produktet inneholder ingen stoffer klassifisert som helse- eller miljøfarlige i konsentrasjoner som det skal tas hensyn til i henhold til EU-direktiver

HMS-datablad

i henhold til Direktiv 1907/2008/EU



Ciba

 Utgave: 1.0 (NO)
 Dato / oppdatert: 04.04.2008
 Trykdato: 20.05.2008

MAGNAFLOC 10

4. Førstehjelpstiltak**Ved innånding:**

Flytt ut i frisk luft. Søk medisinsk hjelp hvis du føler deg uvel eller ved langvarig eksponering.

Ved hudkontakt:

Fjern tilsølte klær. Vask tilsølt hud med såpe og mye vann. Søk medisinsk hjelp hvis hudirritasjon eller dermatitt oppstår eller vedvarer.

Ved kontakt med øynene:

Skyll omgående med store mengder vann i minst 10 minutter og sørg for å skylle under øyelokkene. Kontakt lege hvis iritasjon oppstår.

Ved svelging:

Fremkall ikke brekninger. Kontroller åndedrett og puls. Plasser offeret i stabilt sideleie, tildekk og holde vedkommende varm. Løsne tetsittende klær som snipp, slips, belte eller bukselinning. Søk medisinsk hjelp. Skyll munnen og drikk deretter rikelig med vann. Gi aldri en bevisstløs person noe oralt. Søk medisinsk hjelp hvis du føler deg uvel.

5. Tiltak ved brannslukning**Egnede brannslukningsmidler:**

skum, pulver, karbondioksid

Av sikkerhetsgrunner uegnede brannslukningsmidler:

Hvis det brukes vann, må fotgjenger- og biltrafikk begrenses på steder der det kan være sklifare.

Forbrenningsprodukter:

Karbon- og nitrogenoksider.

Eksponeringsfare:

Svært glatt når det er vått.

Særskilt verneutstyr:

Kjemisk vermedress, egnede hansker, støvler og åndedrettsapparat.

6. Tiltak ved utilsiktet utslipp**Personlige sikkerhetstiltak:**

Unngå støvutvikling. Egnert støvmaske. Bruk personlige verneklær.

Miljøverntiltak:

Unngå at det kommer ut i kloakknett, grunn- og overflatevann.

Metode for rengjøring/fjerning:

Fei opp og ha det i egnede beholdere for deponering.
 Rester eller lite søl spyles helt vekk med store mengder vann.
 Produktsøl som blir vått eller sølt vandig løsning utgjør en fare fordi det blir glatt.
 Vaskeløsning samles opp og deponeres i samsvar med lokale bestemmelser.

7. Håndtering og oppbevaring**Håndtering**

Forurennet tøy fjernes straks og vaskes før det anvendes igjen.
 Vask hender og/eller ansikt før pauser og ved arbeidstidens slutt.
 Unngå støv og gnistdannelse. Sørg for god ventilasjon og lokale avtrekk. Ikke spis, drikk eller røyk på arbeidsplassen.
 Sklifare når det er vått.

Brann- og eksplosjonsbeskyttelse:

I likhet med mange organiske pulvere kan det dannes brennbare støvskyer

HMS-datablad

i henhold til Direktiv 1907/2006/EU

**Ciba**
 Utgave: 1.0 (NO)
 Dato / oppdatert: 04.04.2008
 Trykkgdato: 20.05.2008

MAGNAFLOC 10

Oppbevaringskrav:
 Oppbevares tørt og kjølig.
 Beskyttes mot vann og fuktighet.
 Unngå ekstreme temperaturer.
8. Eksponeringskontroll og personlig verneutstyr**Grenseverdien for eksponering****Støv**
 Norge. Administrative normer:
 Gjennomsnittsverdi: 5 mg/m³ (Respirabelt støv)
 Norge. Administrative normer:
 Gjennomsnittsverdi: 10 mg/m³ (Totalstøv)
79-06-1: Akrylamid
 Norge. Administrative normer:
 Gjennomsnittsverdi: 0,03 mg/m³
 Norge. Administrative normer:
 Kan adsorberes gjennom huden
Tekniske tiltak/forholdsregler:
 Sørg for ordentlig avtrekk ved maskineri og på steder der støv kan dannes.
 Sørg for tilstrekkelig ventilasjon, spesielt på lukkede områder.
Åndedrettsvern:
 Bruk støvmaske ved støvdannelse.
 Åndedrettsvern (Engangs, EN149 FFP2S).
 Halv eller full ansiktsmaske med partikkelfilter type P2. (Europeisk standard EN 143).
Håndbeskyttelse:
 PVC eller andre hansker av plastmateriale
 Vernehansker av gummi.
Øyevern:

Vernebriller med sidebeskyttelse (vernebriller) (EN 166)

Verneklær:

Lett vernetøy.

9. Fysiske og kjemiske egenskaper

Form:	pulver
Farge:	off-white
Lukt:	luktfri
pH-verdi:	5 - 7 1 % oppløsning
Smeltepunkt:	ikke relevant
Kokepunkt:	ikke relevant
Flammepunkt:	ikke relevant
eksplosjonsfare:	Ingen eksplosive egenskaper, unntatt ved støvdannelse.
Brannfremmende egenskaper:	ikke relevant
Damptrykk:	ikke testet
Tetthet:	ca. 0,8 g/cm ³

side 3 / 6

00000020986

HMS-datablad

i henhold til Direktiv 1907/2006/EU


 Utgave: 1.0 (NO)
 Dato / oppdatert: 04.04.2008
 Trykddato: 20.05.2008

MAGNAFLOC 10

Relativ dampetthet (luft): Ikke testet
 Løselighet i vann: Danner en viskøs løsning
 Oppløselighet: Ikke testet
 Fordelingskoeffisient n-oktanol/vann (log Pow): ikke relevant
 Viskositet, dynamisk: Ikke testet
 Fordampningshastighet: Ikke testet

10. Stabilitet og reaktivitet

Forhold som må unngås:
 Unngå fuktighet. Unngå ekstreme temperaturer.

Materialer som må unngås:
 Reaktive kjemikalier.

Helsefarlige spaltningsprodukter:
 Ingen nedbryting forventet under normale oppbevaringsforhold.

11. Opplysninger om helsefare

Akutt oral toksisitet:
 rotte/LD50: > 2.000 mg/kg
 Analogt til et produkt av liknende sammensetning.

Akutt hud-toksisitet:
 Ikke testet

Akutt inhalativ toksisitet:
 Ikke testet

Hudirritasjon/etsing:
 ingen trinnvis inndeling (Konvensjonell metode)

Øyeirritasjon/etsing:
 ingen trinnvis inndeling (Konvensjonell metode)

Hudsensibilisering:
 Ikke testet

Vurdering luftveissensibilisering:
 Ikke testet

12. Opplysninger om miljøfare

Fisketoksisitet:
 Brachydaniø rerio/96 h/LC50: 357 mg/l (OECD 203/EC C.1)
 Fra tester på et produktvalg

Toksisitet for virvelløse dyr som lever i vann:
 Daphnia magna/48 h/EC50: 212 mg/l (OECD 202/EC C.2)
 Fra tester på et produktvalg

Toksisitet hos vannplanter:
 Chlorella vulgaris/72 h/EC50: > 1.000 mg/l (OECD 201/EC C. 3)
 Fra tester på et produktvalg

Toksisitet for mikroorganismer:
 Pseudomonas putida/24 h/EC50: 892 mg/l
 Fra tester på et produktvalg

HMS-datablad

i henhold til Direktiv 1907/2008/EU


 Utgave: 1.0 (NO)
 Dato / oppdatert: 04.04.2008
 Trykdato: 20.05.2008

MAGNAFLOC 10

Biologisk nedbrytning:
 Ikke testet
13. Fjerning av kjemikalieavfall
Avfall fra rester/ubrukte produkter:
 Observer alle lokale bestemmelser.

Forurenset emballasje:

 Forurenset emballasje skal tømmes optimalt og avfallsbehandles som stoffet/produktet.
 Rent emballasjemateriell skal underkastes avfallshåndteringsopplegg (resirkulering, gjenbruk) i henhold til lokale bestemmelser.
14. Opplysninger om transport
Landtransport (ADR):

Ikke farlig gods i henhold til transportforskriftene.

Landtransport (RID):

Ikke farlig gods i henhold til transportforskriftene.

Sjøtransport (IMDG):

Ikke farlig gods i henhold til transportforskriftene.

Flytransport (ICAO/IATA):

Ikke farlig gods i henhold til transportforskriftene.

15. Opplysninger om lover og forskrifter
Forskrifter i henhold til den Europeiske union (Merking) / Nasjonale forskrifter

Stoffet er klassifisert som giftig (kreftramkallende grunnet innhold av mer enn 0.01% akrylamid) i henhold til norsk lov. Norge har i medhold av EØS-avtalen avvikende klassifisering og merking av enkelte kjemikalier i forhold til EU.

Faresymbol(er):

T Giftig.


R-setning(er):

R45 Kan forårsake kreft.

S-setning(er):

S45 Ved uhell eller illebefinnende er omgående legebehandling nødvendig, vis etiketten hvis mulig.

S53 Unngå direkte kontakt - innhent spesielle opplysninger før bruk.

16. Andre opplysninger av betydning for brukerens helse og sikkerhet
Anvendelse:

Ikke anbefalt anvendelse: PRODUKTENE FRA DIVISJON ADDITIVER, ER AV TEKNISK KVALITET OG ER IKKE MENT Å BRUKES I PRODUKTER HVOR UTVIDET KONTAKT MED SLIMHINNER, KROPPSVÅSKER, HUD ELLER IMPLANTATER VIL FOREKOMME. UNNTAK ER HVIS PRODUKTET HAR BLITT TESTET MOT OG I SAMSVAR MED NASJONALE OG INTERNASJONALE TESTKRAV.

HMS-datablad

i henhold til Direktiv 1907/2006/EU

**Ciba**Utgave: 1.0 (NO)
Dato / oppdatert: 04.04.2008
Trykkgdato: 20.05.2008

MAGNAFLOC 10

SAMT CIBA'S EGNE KRAV OG GODKJENT FOR SLIKT BRUK. VED ANDRE BRUKSOMRÅDER SKAL PRODUSENTEN KONTAKTES. OPPLYSNINGENE I HMS-DATABLADET OMFATTER BARE CIBA PRODUKTER SOLGT UNDER DET OPPLYSTE HANDELSNAVNET. INFORMASJON OM PRODUKTENE KAN FÅS VED HENVENDELSE TIL CIBA SPECIALTY CHEMICALS.

R-setninger og faresymboler:

R45	Kan forårsake kreft.
R46	Kan forårsake arvelige skader.
R20/21	Farlig ved innånding og hudkontakt.
R25	Giftig ved svelging.
R36/38	Irriterer øynene og huden.
R43	Kan gi allergi ved hudkontakt.
R48/23/24/25	Giftig; alvorlig helsefare ved lengre tids påvirkning ved innånding, hudkontakt og svelging.
R62	Mulig fare for skade på forplantningsevnen.
T	Giftig.

Loddrette streker i venstre marg henviser til endringer i forhold til foregående versjon.

Dette produktet skal lagres, håndteres og brukes i samsvar med god industriell hygiene praksis og i samsvar med alle lokale lover og regler. Informasjonen listet i dette bladet er basert på nåværende informasjon om produktet og er ment å beskrive våre produkter i forhold til nåværende sikkerhetskrav. Det bør derfor ikke antas som en garanti for spesifikke egenskaper.

12.3 HMS datablad for Magnafloc LT38



Safety data sheet

Page: 1/7

BASF Safety data sheet according to Regulation (EC) No. 1907/2006

Date / Revised: 17.08.2010

Version: 1.0

Product: MAGNAFLOC® LT38

(30478997/SDS_GEN_EU/EN)

Date of print 05.10.2010

1. Identification of the substance/mixture and of the company/undertaking

MAGNAFLOC® LT38

Use: Coagulant

Company:

BASF SE

67056 Ludwigshafen

GERMANY

Water-Solutions

Telephone: +44 1274 417856

Telefax number: +49 621 60-41517

E-mail address: psr-watersolutions@basf.com

Emergency information:

International emergency number:

Telephone: +49 180 2273-112

2. Hazards Identification

According to REGULATION (EC) No 1272/2008 on classification, labelling and packaging of substances and mixtures

Label elements and precautionary statement:

Hazard Statement:

Harmful to aquatic life with long lasting effects.

Precautionary Statements (Prevention):

Avoid release to the environment.

Precautionary Statements (Disposal):

Dispose of contents/container to hazardous or special waste collection point.

Classification of the substance and mixture:

Chronic hazards to the aquatic environment: Cat. 3

Possible Hazards (according to Directive 67/548/EWG or 1999/45/EC)

BASF Safety data sheet according to Regulation (EC) No. 1907/2006
Date / Revised: 17.08.2010
Product: MAGNAFLOC® LT38

Version: 1.0

(30478997/SDS_GEN_EU/EN)

Date of print 05.10.2010

Harmful to aquatic organisms, may cause long-term adverse effects in the aquatic environment.
May cause some eye irritation which should cease after removal of the product.
Prolonged contact with the product can result in skin irritation.
Very slippery when wet.

3. Composition/Information on Ingredients

Chemical nature

Aqueous solution based on: cationic, homopolymer

Hazardous ingredients (GHS)

according to Regulation (EC) No. 1272/2008

2-Propen-1-aminium, N,N-dimethyl-N-2-propenyl-, chloride, homopolymer

Content (W/W): >= 25 % - <= 50 % Eco chronic: Cat. 3

CAS Number: 26062-79-3

Hazardous ingredients

according to Directive 1999/45/EC

2-Propen-1-aminium, N,N-dimethyl-N-2-propenyl-, chloride, homopolymer

Content (W/W): >= 25 % - <= 50 %

CAS Number: 26062-79-3

R-phrases: 52/53

The wording of the hazard symbols and R-phrases is specified in chapter 16 if dangerous ingredients are mentioned.

4. First-Aid Measures

General advice:

Remove contaminated clothing.

If inhaled:

If difficulties occur after vapour/aerosol has been inhaled, remove to fresh air and seek medical attention.

On skin contact:

Wash thoroughly with soap and water.

On contact with eyes:

Wash affected eyes for at least 15 minutes under running water with eyelids held open.

On ingestion:

Rinse mouth and then drink plenty of water.

BASF Safety data sheet according to Regulation (EC) No. 1907/2006
Date / Revised: 17.08.2010
Product: MAGNAFLOC® LT38

Version: 1.0

(30478997/SDS_GEN_EU/EN)

Date of print 05.10.2010

Note to physician:

Treatment: Treat according to symptoms (decontamination, vital functions), no known specific antidote.

5. Fire-Fighting Measures

Suitable extinguishing media:
water spray, dry powder, foam

Additional information:

If water is used, restrict pedestrian and vehicular traffic in areas where slip hazard may exist.

Specific hazards:

harmful vapours

Evolution of fumes/fog. The substances/groups of substances mentioned can be released in case of fire.

Further information:

Contaminated extinguishing water must be disposed of in accordance with official regulations.

6. Accidental Release Measures

Personal precautions:

Use personal protective clothing.

Environmental precautions:

Contain contaminated water/firefighting water. Do not discharge into drains/surface waters/groundwater.

Methods for cleaning up or taking up:

For large amounts: Pump off product.

For residues: Pick up with suitable absorbent material. Dispose of absorbed material in accordance with regulations.

Additional information: High risk of slipping due to leakage/spillage of product.

7. Handling and Storage

Handling

No special measures necessary provided product is used correctly.

Protection against fire and explosion:

No special precautions necessary.

Storage

Further information on storage conditions: Keep container tightly closed and in a cool place. Avoid extremes of temperature, especially frost and freezing conditions.

BASF Safety data sheet according to Regulation (EC) No. 1907/2006

Date / Revised: 17.08.2010

Product: MAGNAFLOC® LT38

Version: 1.0

(30478997/SDS_GEN_EU/EN)

Date of print 05.10.2010

Storage stability:
Storage temperature: ≥ 5 °C
Avoid extreme heat.

Protect from temperatures below: 5 °C
The packed product is destroyed at low temperatures or by frost.

8. Exposure Controls/Personal Protection

Personal protective equipment

Respiratory protection:
Respiratory protection not required.

Hand protection:
Chemical resistant protective gloves (EN 374)
Suitable materials also with prolonged, direct contact (Recommended: Protective index 6, corresponding > 480 minutes of permeation time according to EN 374):
e.g. nitrile rubber (0.4 mm), chloroprene rubber (0.5 mm), polyvinylchloride (0.7 mm) and other
Supplementary note: The specifications are based on tests, literature data and information of glove manufacturers or are derived from similar substances by analogy. Due to many conditions (e.g. temperature) it must be considered, that the practical usage of a chemical-protective glove in practice may be much shorter than the permeation time determined through testing.
Manufacturer's directions for use should be observed because of great diversity of types.

Eye protection:
Safety glasses with side-shields (frame goggles) (e.g. EN 166)

Body protection:
light protective clothing

General safety and hygiene measures:
Handle in accordance with good industrial hygiene and safety practice. Wearing of closed work clothing is recommended.

9. Physical and Chemical Properties

Form: liquid
Colour: colourless to yellow
Odour: amine-like, slight odour

pH value: approx. 5.5

Melting point: < 0 °C
Boiling point: > 100 °C

BASF Safety data sheet according to Regulation (EC) No. 1907/2006
Date / Revised: 17.08.2010
Product: MAGNAFLOC® LT38

Version: 1.0

(30478997/SDS_GEN_EU/EN)

Date of print 05.10.2010

Flash point: A flash point determination is unnecessary due to the high water content.

Explosion hazard: not explosive

Density: approx. 1.0 g/cm³

Solubility in water: miscible

10. Stability and Reactivity

Conditions to avoid:
Avoid excessive temperatures. Avoid freezing.

Substances to avoid:
strong acids, strong bases, strong oxidizing agents

Hazardous reactions:
No hazardous reactions when stored and handled according to instructions.

Hazardous decomposition products:
No hazardous decomposition products if stored and handled as prescribed/indicated.

11. Toxicological Information

Acute toxicity

Experimental/calculated data:
LD50 rat (oral): > 5,000 mg/kg
The product has not been tested. The statement has been derived from products of a similar structure and composition.

Irritation

Assessment of irritating effects:
The product has not been tested. The statement has been derived from products of a similar structure and composition.

Experimental/calculated data:
Skin corrosion/irritation rabbit: non-irritant (OECD Guideline 404)

Serious eye damage/irritation rabbit: non-irritant (OECD Guideline 405)

12. Ecological Information

Ecotoxicity

BASF Safety data sheet according to Regulation (EC) No. 1907/2006
Date / Revised: 17.08.2010
Product: MAGNAFLOC® LT38

Version: 1.0

(30478997/SDS_GEN_EU/EN)

Date of print 05.10.2010

Assessment of aquatic toxicity:

Acutely harmful for aquatic organisms. May cause long-term adverse effects in the aquatic environment.

The product has not been tested. The statement has been derived from products of a similar structure and composition.

Toxicity to fish:

LC50 (96 h) 10 - 100 mg/l

Aquatic invertebrates:

EC50 (48 h) 10 - 100 mg/l

Persistence and degradability

Elimination information:

Not readily biodegradable (by OECD criteria).

13. Disposal Considerations

Must be disposed of or incinerated in accordance with local regulations.

Contaminated packaging:

Uncontaminated packaging can be re-used.

Packs that cannot be cleaned should be disposed of in the same manner as the contents.

14. Transport Information

Land transport

ADR

Not classified as a dangerous good under transport regulations

RID

Not classified as a dangerous good under transport regulations

Inland waterway transport

ADNR

Not classified as a dangerous good under transport regulations

Sea transport

IMDG

Not classified as a dangerous good under transport regulations

BASF Safety data sheet according to Regulation (EC) No. 1907/2006
Date / Revised: 17.08.2010
Product: MAGNAFLOC® LT38

Version: 1.0

(30478997/SDS_GEN_EU/EN)

Date of print 05.10.2010

Air transport
IATA/ICAO

Not classified as a dangerous good under transport regulations

15. Regulatory Information

Regulations of the European union (Labelling) / National legislation/Regulations

R-phrase(s) R52/53	Harmful to aquatic organisms, may cause long-term adverse effects in the aquatic environment.
S-phrase(s) S61	Avoid release to the environment. Refer to special instructions/safety data sheets.

Classification required according to EU.

Other regulations

16. Other Information

Due to the merger of CIBA and BASF Group all Material Safety Data Sheets have been reassessed on the basis of consolidated information. This may have resulted in changes of the Material Safety Data Sheets. In case you have questions concerning such changes please contact us at the address mentioned in Section I.

Full text of hazard symbols and R-phrases if mentioned as hazardous components in chapter 3:
52/53 Harmful to aquatic organisms, may cause long-term adverse effects in the aquatic environment.

Vertical lines in the left hand margin indicate an amendment from the previous version.

The data contained in this safety data sheet are based on our current knowledge and experience and describe the product only with regard to safety requirements. The data do not describe the product's properties (product specification). Neither should any agreed property nor the suitability of the product for any specific purpose be deduced from the data contained in the safety data sheet. It is the responsibility of the recipient of the product to ensure any proprietary rights and existing laws and legislation are observed.

12.4 Værdata fra Kirkenes lufthavn (kilde: Metrologisk inst.)

År	Mnd	Dag	Time (NMT)	Lufttemperatur (°C)	Vindretning (grader)	Vindhastighet 10 meter over bakken (m/s)
2011	9	20	7	2,3	142	4,6
2011	9	20	13	10	151	4
2011	9	20	19	6,1	133	1,3
2011	9	21	7	4,8	143	6
2011	9	21	13	10,8	157	5,7
2011	9	21	19	8,7	145	2,8
2011	9	22	7	6,5	137	4,8
2011	9	22	13	9	150	5,9
2011	9	22	19	4,9	117	4,9

12.5 Bakgrunnsdata for vekstinhiveringstest med algen *Skeletonema costatum*

Tillagning at test konsentrasjoner 12.12.11

Test kombinasjon	Gruveavgang/ sediment Vekt g tørrvekt	LT38 mg	LT38 Mg/kg	M10 mg	M10 Mg/kg
1)	759				
2)	740	4,9	6,63		
3)	744	444,1	596		
4)	740			6,5	8,8
5)	743			66	89
6)	735	5,3	7,21	7,0	9,5
7)	743	448,5	603	64,9	87
8)	735				
9)	648				

Ved tillagning av vannfraksjon var det ca 740g med gruveavgang/sediment + 1.8 med sjøvann i en bøtte som sto på gyngbord i 2 døgn før teststart. Vannet ble dekantert og filtrert gjennom Whatman GF/C filter før bruk i testen.

Beskrivelse av hvordan «ekstra» testkonsentrasjoner er laget. Testkonsentrasjoner er beregnet som en geometrisk rekke. For LT38 benyttes en faktor 1.8 mellom testkonsentrasjoner mens for M10 benyttes en faktor 1.3. Nederste rad angir hvilke testkonsentrasjoner som er testet.

faktor	1.0	x 1.8	x 3.2	x5.6	x 10	x18	x32	x56	x100
LT38	6.75	12	21	38	68	121	215	382	680
faktor	1.0	1.3	1.8	2.4	3.2	4.2	5.6	7.4	9.9
M10	9.9	13	18	23	31	42	55	73	98
testet	ja	nei	nei	nei	ja	ja	ja	ja	ja

Tillagning at test konsentrasjoner 23.01.12. Fordi LT38 øker med 100x og M10 kun øker med 10x mellom Test 6 og 7 må man bruke ulike faktorer for etablering av en geometrisk test konsentrasjons rekke. For LT38 ble det benyttet en faktor på 1,8 mellom testkonsentrasjoner mens for M10 ble det benyttet en faktor 1,3. Det sikrer en jevn endring i forholdet mellom LT38 og M10. I test 6 så er forholdet LT38/M10=0,68 mens i test 7 så er forholdet LT38/M10=6.8. Se også tabellen ovenfor

Test kombinasjon	Gruveavgang/ sediment Vekt g tørrvekt	LT38 mg	LT38 Mg/kg	M10 mg	M10 Mg/kg
2)x 10	737	45	61		
2)x18	744	77	103		
2)x32	740	139	189		
7)x10	740	45	61	21	28
7)x18	738	77	104	28	38
7)x32	739	1,9	188	37,3	50

Tillagning at test konsentrasjoner 20.02.12

Test kombinasjon	Gruveavgang/ sediment Vekt g tørrvekt	LT38 mg	LT38 Mg/kg	M10 mg	M10 Mg/kg
2)x 56	745	280	376		
2)x100	732	500	683		
7)x56	749	280	375	55	74
7)x100		500	668	150	101

Temperaturog lys

Temperatur og lys avlest i algevekst forsøkene

Test dato	Min °C	Max °C	Lys ($\mu\text{M m}^{-2} \text{s}^{-1}$)
12.12.11	19.6	20.6	92
23.01.12	19.8	21.8	90
31.01.12	19.8	20.8	88
20.02.12	20,2	21,5	87

pH verdier i kontroller

Test dato	pH at start	pH at end
12.12.11	7.92	8.34
23.01.12	7.91	8.48
31.01.12	7.79	8.27
20.02.12	7,80	8,50

Celletellinger etter 72 timer og vekst rate for test 12.12.11

Test concentration		Kontroll	
		72h 10 ⁶ cells/l	μ d ⁻¹
Kontroll	A	605	1.64
	B	565	1.62
	C	475	1.56
	D	498	1.58
	E	87	
	F	400	

Test concentration		Kontroll		8) Bøkfjorden		9) Oslofjord	
		72h 10 ⁶ cells/l	μ d ⁻¹	72h 10 ⁶ cells/l	μ d ⁻¹	72h 10 ⁶ cells/l	μ d ⁻¹
100 %	A	588	1.63	788	1.73	660	1.67
	B	444		1020	1.82	550	1.61
	C	415	1.52	892	1.78	665	1.68
	D	650	1.67	979	1.81	499	1.58
	E	1136	1.86	1025	1.83	590	1.64
	F	475	1.56	935	1.79	625	1.66

Test concentration		2) 6.75 LT38		4) 9.9 M10		6) 6.75 LT38+9.9M10	
		72h 10 ⁶ cells/l	μ d ⁻¹	72h 10 ⁶ cells/l	μ d ⁻¹	72h 10 ⁶ cells/l	μ d ⁻¹
100 %	A	766	1.73	625	1.63	766	1.68
	B	627	1.66	667	1.65	627	1.61
	C	625	1.66	571	1.60	625	1.61
	D	1194	1.88			834	1.71
	E	686	1.69			686	1.64
	F	864	1.77			4194	1.83

Test konsentrasjon		3) 675 LT38		5) 99 M10		7) 675 LT38 + 99 M10	
		72h 10 ⁶ cells/l	μ d ⁻¹	72h 10 ⁶ cells/l	μ d ⁻¹	72h 10 ⁶ cells/l	μ d ⁻¹
10 %	A	<5	≈ 0			<5	≈ 0
	B	<5	≈ 0			<5	≈ 0
	C	<5	≈ 0			<5	≈ 0
18 %	A	<5	≈ 0	383	1.47	<5	≈ 0
	B	<5	≈ 0	269	1.35	<5	≈ 0
	C	<5	≈ 0	215	1.27	<5	≈ 0
32 %	A	<5	≈ 0	463		<5	≈ 0
	B	<5	≈ 0	-		<5	≈ 0
	C	<5	≈ 0	79		<5	≈ 0
56 %	A	<5	≈ 0	572	1.60	<5	≈ 0
	B	<5	≈ 0	661	1.65	<5	≈ 0
	C	<5	≈ 0	920	1.76	<5	≈ 0
100 %	A	<5	≈ 0	1013	1.80	<5	≈ 0
	B	<5	≈ 0	976	1.78	<5	≈ 0
	C	<5	≈ 0	926	1.76	<5	≈ 0

Celletellinger etter 72 timer og vekst rate for test 23.01.12 kontroller

Test konsentrasjon		Kontroll	
		72h 10 ⁶ cells/l	μ d ⁻¹
Kontroll	A	287	1.43
	B	427	1.57
	C	267	1.40
	D	na	
	E	na	
	F	na	

Celletelling etter 72 timer og vekst rate for test 23.01.12 for testkonsentrasjoner

Test konsentrasjon		2) x10= 67.5 LT38		2) x18=122 LT38		2) x32=216 LT38	
		72h 10 ⁶ cells/l	μ d ⁻¹	72h 10 ⁶ cells/l	μ d ⁻¹	72h 10 ⁶ cells/l	μ d ⁻¹
10 %	A	574	1.67	221	1.34	304	1.45
	B	240	1.37	806	1.79	418	1.56
	C	289	1.43	273	1.41	366	1.52
18 %	A	701	1.74	738	1.76	581	1.68
	B	714	1.75	732	1.76	588	1.68
	C	659	1.72	654	1.72	355	1.50
32 %	A	517	1.64	745	1.77	422	1.57
	B	731	1.76	574	1.67	648	1.72
	C	881	1.83	603	1.69	661	1.72
56 %	A	875	1.82	1097	1.90	604	1.69
	B	1060	1.89	1174	1.93	386	1.53
	C	898	1.83	1013	1.87	526	1.64
100 %	A	901	1.83	1118	1.91	114	1.10
	B	782	1.78	1114	1.91	326	1.47
	C	1133	1.91	797	1.79	60	0.88

Celletelling etter 72 timer og vekst rate for test 23.01.12 for testkonsentrasjoner

Test konsentrasjon		6) x10= 67.5 LT38 +31 M10		6) x18=122 LT38 +41 M10		6) x32=216 LT38 +55 M10	
		72h 10 ⁶ cells/l	μ d ⁻¹	72h 10 ⁶ cells/l	μ d ⁻¹	72h 10 ⁶ cells/l	μ d ⁻¹
10 %	A	216	1.33	955	1.85	406	1.55
	B	281	1.42	782	1.78	506	1.63
	C	294	1.44	757	1.77	364	1.51
18 %	A	454	1.59	963	1.86	646	1.72
	B	500	1.63	946	1.85	696	1.74
	C	319	1.47	720	1.75	614	1.70
32 %	A	318	1.47	1045	1.89	596	1.69
	B	332	1.48	684	1.74	485	1.61
	C	423	1.57	874	1.82	500	1.63
56 %	A	682	1.73	444	1.58	na	na
	B	1023	1.88	805	1.79	na	na
	C	648	1.72	663	1.72	na	na
100 %	A	665	1.73	998	1.87	487	1.62
	B	956	1.85	512	1.63	736	1.76
	C	990	1.87	827	1.80	592	1.68

Celletall og estimert vekst for test med LT38 direkte i test medium utført 31.01.12.

Concentration of treated water	Day: Hours:	0	1	2	3	μ d^{-1}
		0	24	48	72	
		10^6 cells/l	10^6 cells/l	10^6 cells/l	10^6 cells/l	
Kontroll	A	5	33	298	1610	1.43
	B	5		291	1491	1.39
	C	5	32	297	1383	1.41
	D	5	58	357	1790	1.32
	E	5	39	355	1815	1.36
	F	5	44	345	1681	1.34
0.056 mg/l	A	5	36	309	1673	1.49
	B	5	39	309	1669	1.49
	C	5	39	318	1667	1.38
0.1 mg/l	A	5	37	296	1682	1.39
	B	5	37	325	1728	1.37
	C	5	36	304	1756	1.34
0.18 mg/l	A	5	33	320	1752	1.31
	B	5	33	337	2138	1.43
	C	5	34	307	1694	1.20
0.32 mg/l	A	5	16	137	811	1.38
	B	5	12	104	521	1.35
	C	5	14	109	712	1.38
0.56 mg/l	A	5	5	62	419	1.39
	B	5	6	63	360	1.46
	C	5	5	61	408	1.47
1.0 mg/l	A	5	5	62	419	1.39
	B	5	6	63	360	1.46
	C	5	5	61	408	1.47

Celletall og estimert vekst for test med LT38 direkte I test medium utført 20.02.12.

Concentration of treated water	Day:	0	1	2	3	μ d^{-1}
	Hours:	0	24	48	72	
		10^6 cells/l	10^6 cells/l	10^6 cells/l	10^6 cells/l	
Kontroll	A	5	28	116	551	1.61
	B	5	52	129	466	1.55
	C	5	28	130	590	1.64
	D	5	32	181	677	1.68
	E	5	20	177	669	1.68
	F	5	22	180	660	1.67
0.18 mg/l	A	5	17	119	349	1.46
	B	5	10	61	268	1.37
	C	5	17	99	459	1.55
0.32 mg/l	A	5	9	62	290	1.39
	B	5	12	85	448	1.54
	C	5	7	36	195	1.26
0.56mg/l	A	5	4	28	178	1.22
	B	5	4	27	207	1.28
	C	5	5	31	206	1.27
1.0 mg/l	A	5	2	12	101	1.03
	B	5	4	16	128	1.11
	C	5	2	14	118	1.08
1.8 mg/l	A	5	1	1	9	0.20
	B	5	2	2	10	0.24
	C	5	1	3	15	0.38
3.2 mg/l	A	5	2	1	3	-0.18
	B	5	3	2	5	0.00
	C	5	2	2	4	-0.08
5.6 mg/l	A	5	3	2	10	0.24
	B	5	3	2	7	0.12
	C	5	3	2	11	0.27

Celletellinger etter 72 timer og vekst rate for test 20.2.12 Kontroller

Test konsentrasjon		Kontroll	
		72h 10 ⁶ cells/l	μ d ⁻¹
Kontroll	A	659	1.63
	B	612	1.60
	C	663	1.63
	D	891	1.73
	E	628	1.61
	F	588	1.59

Celletellinger etter 72 timer og vekst rate for test 20.02.12

Test konsentrasjon		2) x56= 377mg LT38		6) x56=375 mg LT38+M10	
		72h 10 ⁶ cells/l	μ d ⁻¹	72h 10 ⁶ cells/l	μ d ⁻¹
10 %	A	574	1.67	659	1.63
	B	240	1.37	553	1.57
	C	289	1.43	810	1.70
18 %	A	701	1.74	434	1.49
	B	714	1.75	293	1.36
	C	659	1.72	289	1.35
32 %	A	517	1.64	445	1.50
	B	731	1.76	130	1.09
	C	881	1.83	418	1.48
56 %	A	875	1.82	799	1.69
	B	1060	1.89	807	1.69
	C	898	1.83	736	1.66
100 %	A	901	1.83	734	1.66
	B	782	1.78	940	1.75
	C	1133	1.91	1055	1.78

Celletellinger etter 72 timer og vekst rate for test 20.02.12

Test konsentrasjon		2) x100= 675 mg LT38		6) x100=675 mg LT38+M10	
		72h 10 ⁶ cells/l	μ d ⁻¹	72h 10 ⁶ cells/l	μ d ⁻¹
0.1 %	A	956	1.75	573	1.56
	B	803	1.69	683	1.62
	C	775	1.68	573	1.56
0.32 %	A	868	1.72	208	1.23
	B	677	1.64	74	0.89
	C	702	1.65	106	1.00
1 %	A	158	1.15	127	1.06
	B	182	1.20	134	1.08
	C	159	1.15	150	1.12
3.2%	A	7	0.11	5	0.00
	B	6	0.06	5	0.00
	C	2	-0.31	2	-0.30
10 %	A	2	-0.31	8	0.15
	B	3	-0.17	11	0.26
	C	3	-0.17	10	0.23
32 %	A	3	-0.17	27	0.55
	B	2	-0.31	22	0.49
	C	3	-0.17	28	0.57
100 %	A	4	-0.07	5	0.00
	B	2	-0.31	5	0.00
	C	1	-0.54	5	0.00

12.6 Bakgrunnsdata for test med *Acartia tonsa*

Tillagning av test konsentrasjoner

Test kombinasjon	Gruveavgang/ sediment Vekt g tørrvekt	LT38 mg	LT38 Mg/kg	M10 mg	M10 Mg/kg
1)	759				
2)	740	4,9	6,63		
3)	744	444,1	596		
4)	740			6,5	8,8
5)	743			66	89
6)	735	5,3	7.21	7,0	9,5
7)	743	448,5	603	64,9	87
8)	735				
9)	648				

Ved tillagning av vannfraksjon var det ca 740g med gruveavgang/sediment + 1.8 med sjøvann i en bøtte som sto på gyngbord i 2 døgn før teststart. Vannet ble dekantert og filtrert gjennom Whatman GF/C filter før bruk i testen.

Temperatur under testen varierte i området 19,5 til 21,1 °C.

Saltholdighet i sjøvannet var 32 PSU i alle testene

Miljøparametre målt ved test slutt for *Acartia tonsa* testene

Test kombinasjon	Testkonsentrasjon av testvann					
	100 %		56 %		32 %	
	pH	O ₂ mg/l	pH	O ₂ mg/l	pH	O ₂ mg/l
1)	8.26	6.5				
2)	8.16	6.4				
3)	8.14	6.7	8.14	6.6	8.13	6.5
4)	8.14	6.4				
5)	8.12	6.6	8.13	6.4	8.13	6.4
6)	8.15	6.5				
7)	8.13	6.5	8.14	6.5	8.13	6.6
8)	8.14	6.4				
9)	8.13	6.5				
Kontroll	8.13	6.5				

Oversikt over observert dødelighet hos *Acarti tonsa* etter 48 timer.

Test kombinasjon	Testkonsentrasjon av testvann					
	100 %		56 %		32 %	
	# dyr	Døde dyr	# dyr	Døde dyr	# dyr	Døde dyr
1)	31	0				
2)	29	0				
3)	22	1	25	1	21	2
4)	23	1				
5)	25	0	24	1	23	0
6)	24	0				
7)	23	1	25	1	24	1
8)	23	0				
9)	22	0				
Kontroll	84	2				

12.7 Bakgrunnsdata for test med strandkrabbe

Tillagning at test konsentrasjoner

Test kombinasjon	Gruveavgang/ sediment Vekt g tørrvekt	LT38 mg	LT38 Mg/kg	M10 mg	M10 Mg/kg
1)	8858				
2)	6968	48	6,9		
3)	6767	4352	643		
4)	6968			65,9	9,5
5)	6834			665	97
6)	6968	45	6,4	66,5	9,5
7)	6901	4446	682	644	99
8)	5896				
9)	5829				

I testen så var det 2 cm med gruveavgang/sediment + 8 cm med vann i akvariene

Temperature: minimum 12.0 °C– maximum 13.6 °C

Salinitet var 32 PSU I testene med avgang fra gruve og 34,5 PSU for sediment fra Bøkfjorden og Oslofjorden

Miljøforhold under test med strandkrabbe.

Dag	Avgang gruve			+6.75 mg LT38			+675 mg LT38		
	°C	O ₂ (mg/L)	pH	°C	O ₂ (mg/L)	pH	°C	O ₂ (mg/L)	pH
28.11.11	12.1	8.3	8.06	12.0	7.3	8.05	12.2	7.7	8.05
29.11.11	13.1	7.6	8.03	13	7.2	8	13.1	7.6	8.02
30.11.11	13.2	7.7	8.0	13.2	7.3	8.0	13.2	7.6	8.0
1.12.11	13.4	7.6	7.95	13.4	7.4	8.05	13.4	7.4	7.98
2.12.11	13.5	7.4	8.01	13.5	7.5	7.94	13.6	7.1	7.93

Dag	+9.9 mg M10			+99 mg M10			+6,75 mg LT38+9,9 M10		
	°C	O ₂ (mg/L)	pH	°C	O ₂ (mg/L)	pH	°C	O ₂ (mg/L)	pH
19.09.11	12.2	7.4	8.02	12.1	7.4	8.04	12.2	8.1	8.01
20.09.11	13.1	7.5	7.97	12.9	7.3	8.03	13.3	7.7	7.98
21.09.11	13.2	7.3	7.9	13.1	7.4	8.02	13.4	7.8	8.0
22.09.11	13.5	7.5	8.0	13.3	7.3	8.0	13.5	7.8	7.95
23.09.11	13.6	7.3	7.92	13.6	7.3	7.87	13.6	7.6	7.96

Dag	+675 mg LT38+ 99 mg M10			Bøkfjord sediment			Oslofjord sediment		
	°C	O ₂ (mg/L)	pH	°C	O ₂ (mg/L)	pH	°C	O ₂ (mg/L)	pH
19.09.11	12.2	7.6	7.94	12.1	8.1	8.05	12.1	7.8	8.03
20.09.11	13.1	7.4	7.85	13.2	7.1	8.0	13.3	7.6	7.99
21.09.11	13.3	7.5	7.9	13.3	7.3	8.01	13.3	7.5	8.01
22.09.11	13.4	7.5	7.93	13.5	7.1	7.99	13.5	7.4	7.96
23.09.11	13.6	7.4	7.88	13.6	7.2	7.95	13.6	7.2	7.94

Observasjon av mortalitet

Test kombinasjon	Krabber per tank	Antall døde krabber			
		24 h	48 h	72 h	96 h
1)	10	0	0	0	0
2)	10	0	0	0	0
3)	10	0	0	0	0
4)	10	0	0	0	0
5)	10	0	0	0	0
6)	10	0	0	0	0
7)	10	0	0	0	0
8)	10	0	0	0	0
9)	10	0	0	0	0

Ingen observerbar giftighet tegn hos krabbene

Målt krabbeskall lengde (cm)

lengde	3.6	3.7	4.0	4.1	4.5	5.1	3.3	3.9	4.6	3.8
--------	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----

Gjennomsnitt lengde =3.8 cm

12.8 Bakgrunnsdata for test med piggvar (oksygen, pH, temperatur mm.)

Tillagning at test konsentrasjoner

Test kombinasjon	Gruveavgang/ sediment Vekt g tørrvekt	LT38 mg	LT38 Mg/kg	M10 mg	M10 Mg/kg
1)	8858				
2)	6968	48	6,9		
3)	6767	4352	643		
4)	6968			65,9	9,5
5)	6834			665	97
6)	6968	45	6,4	66,5	9,5
7)	6901	4446	682	644	99
8)	5896				
9)	5829				

I testen så var det 2 cm med gruveavgang/sediment + 8 cm med vann i akvariene

Temperature: minimum 12.2 °C– maximum 13.6 °C

Salinitet var 32 PSU I testene med avgang fra gruve og 34,5 PSU for sediment fra Bøkfjorden og Oslofjorden

Miljøforhold under test med piggvar.

Dag	Avgang gruve			+6.75 mg LT38			+675 mg LT38		
	°C	O ₂ (mg/L)	pH	°C	O ₂ (mg/L)	pH	°C	O ₂ (mg/L)	pH
28.11.11	12.2	8.1	8.01	12.1	8.3	8.06	12.1	7.3	8.05
29.11.11	13.3	7.7	7.98	13.1	7.6	8.03	13	7.2	8
30.11.11	13.4	7.8	8.0	13.2	7.7	8.0	13.2	7.3	8.0
1.12.11	13.5	7.8	7.95	13.4	7.6	7.95	13.4	7.4	8.05
2.12.11	13.6	7.6	7.99	13.5	7.4	8.01	13.5	7.5	7.94

Dag	+9.9 mg M10			+99 mg M10			+6,75 mg LT38+9,9 M10		
	°C	O ₂ (mg/L)	pH	°C	O ₂ (mg/L)	pH	°C	O ₂ (mg/L)	pH
19.09.11	12.1	7.4	8.05	12.2	7.7	8.05	12.2	7.4	8.02
20.09.11	13	7.3	8.03	13.1	7.6	8.02	13.1	7.5	7.97
21.09.11	13.1	7.4	8.02	13.2	7.6	8.0	13.2	7.3	7.9
22.09.11	13.3	7.3	8.0	13.4	7.4	7.98	13.5	7.5	8.0
23.09.11	13.6	7.3	7.87	13.6	7.1	7.93	13.6	7.3	7.92

Dag	+675 mg LT38+ 99 mg M10			Bøkfjord sediment			Oslofjord sediment		
	°C	O ₂ (mg/L)	pH	°C	O ₂ (mg/L)	pH	°C	O ₂ (mg/L)	pH
19.09.11	12.2	7.6	7.94	12.1	8.1	8.05	12.1	7.8	8.03
20.09.11	13.1	7.4	7.85	13.2	7.1	8.0	13.3	7.6	7.99
21.09.11	13.3	7.5	7.9	13.3	7.3	8.01	13.3	7.5	8.01
22.09.11	13.4	7.5	7.93	13.5	7.1	7.99	13.5	7.4	7.96
23.09.11	13.6	7.4	7.88	13.6	7.2	7.95	13.6	7.2	7.94

Observasjon av mortalitet

Test kombinasjon	Fisk per tank	Antall døde fisk			
		24 h	48 h	72 h	96 h
1)	10	0	0	0	0
2)	10	0	0	0	0
3)	10	0	0	0	0
4)	10	0	0	0	0
5)	10	0	0	0	0
6)	10	0	0	0	0
7)	10	0	0	0	0
8)	10	0	0	0	0
9)	10	0	0	0	0

Ingen observerbare giftighet tegn hos fisken

Målt fiske vekt (g) and lengde (cm)

lengde	8.4	8.3	8.7	7.8	7.1	7.2	7.7	8	7.9	7.9
vekt	9.6	9.5	10.6	7.9	6.2	6.4	7.8	9.1	8.7	8.4

Gjennomsnitt vekt =8.4 g, gjennomsnitt lengde =7.9 cm

NIVA: Norges ledende kompetansesenter på vannmiljø

NIVA gir offentlig vannforvaltning, næringsliv og allmennheten grunnlag for god vannforvaltning gjennom oppdragsbasert forsknings-, utrednings- og utviklingsarbeid. NIVA kjennetegnes ved stor faglig bredde og godt kontaktnett til fagmiljøer i inn- og utland. Faglig tyngde, tverrfaglig arbeidsform og en helhetlig tilnæringsmåte er vårt grunnlag for å være en god rådgiver for forvaltning og samfunnsliv.



Norsk institutt for vannforskning

Gaustadalléen 21 • 0349 Oslo
Telefon: 02348 • Faks: 22 18 52 00
www.niva.no • post@niva.no