

OECD testprotokoller - Standardisering av økotoksikologiske tester

Torsten Källqvist
Norsk institutt for vannforskning



Økotoksikologiske tester

Definisjon:

Tester som beskriver stoffers skjebne og effekter i miljøet.

Testkategorier:

- Toksisitet
- Nedbrytbarhet
- Bioakkumulerbarhet



OECD Guidelines for Testing of Chemicals

En samling av de mest relevante, internasjonalt vedtatte testmetoder som brukes av myndigheter, industri og uavhengige laboratorier til å karakterisere potensiell fare ved nye og eksisterende kjemiske substanser og produkter/blandninger

http://www.oecd.org/department/0,2688,en_2649_34377_1_1_1_1_1,00.html



Anvendelsesområder

- Registrering av "nye" kjemikalier 67/548/EEC
- Klassifisering/merking av kjemikalier 67/548/EEC
- Risikovurdering av nye og eksisterende kjemikalier EEC Concil Regulation 793/93
- Risikovurdering/godkjenning av pesticider 91/414/EEC
- Miljømerking av produkter f.ex. Svanen
- Grunnlag for fastsetting av vannkvalitetsstandarder i Vannrammedirektivet



OECD Guidelines - tilhørende ordninger

The MAD-principle:

MAD = Mutual Acceptance of data - innebærer at alle OECD land aksepterer resultater av tester utført i andre land i henhold til OECD Guidelines og GLP

GLP:

GLP = Good Laboratory Practice - Internasjonalt kvalitetssikringssystem for biologiske tester. I Norge er Justervesendet organ for akkreditering og kontroll



OECD Test Guidelines Program - Arbeidsgang

- Forslag til ny TG fremmes av medlemsland
- Forslaget godkjennes av WNT (Nasjonale koordinatører – årlig møte)
- Et eller flere medlemsland utformer utkast til TG
- Utkastet godkjennes av WNT
- Endelig godkjenning av "Joint Meeting"
- Publisering av TG



Section 1: Physical Chemical Properties

- 104 Vapour Pressure
- 105 Water Solubility
- 106 Absorption - Desorption Using a Batch Equilibrium Method
- 107 Partition Coefficient (n-octanol/water): Shake Flask Method
- 111 Hydrolysis as a Function of pH
- 112 Dissociation Constants in Water
- 117 Partition Coefficient (n-octanol/water), HPLC Method
- 121 Estimation of the Adsorption Coefficient (K_{oc}) on Soil and on Sewage Sludge using HPLC



Section 2: Effects on biotic systems - terrestrial

- 216 Soil Microorganisms, Nitrogen Transformation Test
- 217 Soil Microorganisms, Carbon Transformation Test
- 207 Earthworm, Acute Toxicity Tests
- 208 Terrestrial Plants, Growth Test
- 205 Avian Dietary Toxicity Test
- 206 Avian Reproduction Test
- 213 Honeybees, Acute Oral Toxicity Test
- 214 Honeybees, Acute Contact Toxicity Test



Section 2: Effects on biotic systems - aquatic

- 201 Alga, Growth Inhibition Test
- 202 Daphnia sp. Acute Immobilisation Test and Reproduction Test
- 211 Daphnia magna Reproduction Test
- 203 Fish, Acute Toxicity Test
- 204 Fish, Prolonged Toxicity Test: 14-Day Study
- 209 Activated Sludge, Respiration Inhibition Test
- 210 Fish, Early-Life Stage Toxicity Test
- 212 Fish, Short-term Toxicity Test on Embryo and Sac-Fry Stages
- 215 Fish, Juvenile Growth Test



Section 3: Degradation and accumulation

- 301 Ready Biodegradability
 - A: DOC Die-Away Test
 - B: CO₂ Evolution Test
 - C: Modified MITI Test (I)
 - D: Closed Bottle Test
 - E: Modified OECD Screening Test
 - F: Manometric Respirometry



Section 3: Degradation and accumulation

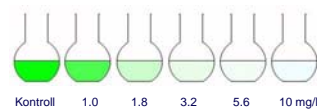
- 302A Inherent Biodegradability: Modified SCAS Test
- 302B Inherent Biodegradability: Zahn-Wellens/EMPA Test
- 302C Inherent Biodegradability: Modified MITI Test (II)
- 303 Simulation Test - Aerobic Sewage Treatment
- 303A Activated Sludge Units - 303B: Biofilms
- 304A Inherent Biodegradability in Soil
- 306 Biodegradability in Seawater
- 307 Aerobic and Anaerobic Transformation in Soil
- 308 Aerobic and Anaerobic Transformation in Aquatic Sediment Systems
- 305 Bioconcentration: Flow-through Fish Test



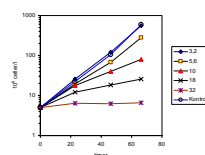
Toksisitetstest med alger, OECD 201



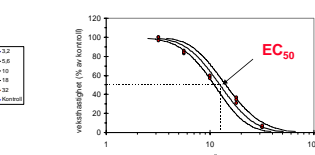
Selenastrum capricornutum



Kolbene podes med alger og inkuberes i lys



Algetettheten måles etter 24, 48 og 72 timer

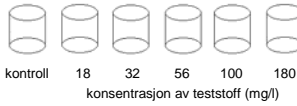


Veksthastigheten beregnes
EC₅₀ beregnes fra responskurven

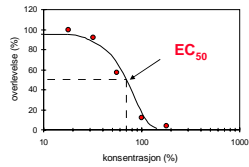


Toksisitetstest med *Daphnia magna*, OECD 211

4 paralleller med 5-7 dyr



ntall overlevende eller mobile registreres etter 24 og 48 timer



Daphnia reproduction test OECD 211

- Individuell eksponering av nyfødte *D. magna*
- Foring med alger (daglig)
- Vannskift 2-3 ggr/uke
- Opptelling og fjerning av unger
- Testen avsluttes etter 21 døgn

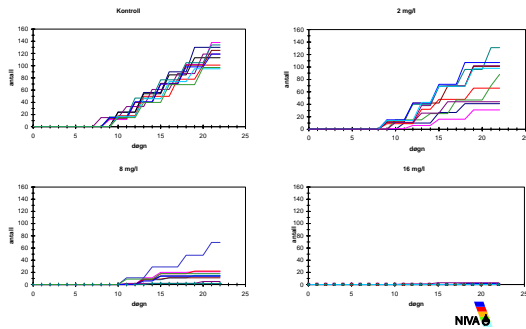


Registrering:

- Overlevelse av forsøksdyr
- Produksjon av avkom/overlevende morder



Daphnia reproduction test OECD 211



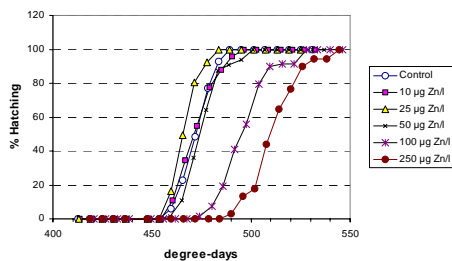
Fish early life stage test OECD 210/212

- Eksponering av befructede egg i en konsentrasjonsserie av teststoffet
- Registrering av
 - Klekkesuksess
 - Klekkesetid
 - Dødelighet av larver
 - Lengde/vekt av larver
 - Deformerte larver



Fish early life stage test OECD 210/212

Effekter av Zn på klekking av ørretrogn



Tester for lett nedbrytbarhet, OCD 301

Prinsipp

- Teststoffet blandes i vann med mineralsalter.
- Mikroorganismer fra avløpsvann tilsettes.
- Prøven inkuberes i mørke ved romtemperatur i 28 døgn.
- Nedbrytningen måles som oksygenforbruk, CO₂-produksjon eller fjerning av organisk karbon



Alternative metoder for beregning av nedbrytbarhet, OECD 301

Biokjemisk oksygenforbruk (BOD) i forhold til teoretisk oksygenforbruk (ThOD) eller (dersom ThOD ikke kan beregnes) kjemisk oksygenforbruk (COD)

$$100 \cdot \frac{BOD_{28}}{ThOD} \% \quad \text{eller} \quad 100 \cdot \frac{BOD_{28}}{COD} \%$$

Produksjon av CO₂ i forhold til teoretisk ved full oksidasjon av organisk karbon (ThCO₂)

$$100 \cdot \frac{CO_2}{ThCO_2} \%$$

Fjerning av løst organisk karbon (DOC)

$$100 \cdot \frac{(DOC_0 - DOC_{28})}{DOC_0} \%$$



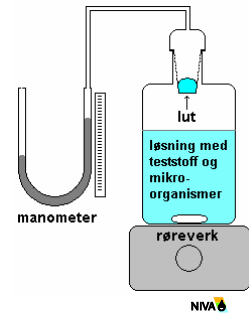
Respirometrisk måling av nedbrytbarhet, OECD 301 F

20-100 mg/l av teststoffet blandes i vann med mikroorganismer i en flaske som er koplet til et manometer.

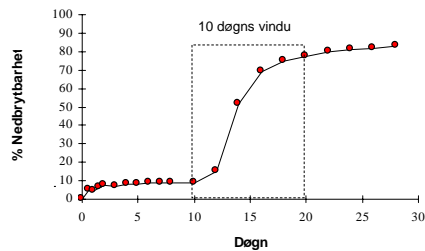
CO₂ som produseres ved nedbrytningen absorberes i en beholder med lut.

Oksygenforbruket gir et trykkfall som kan avles på manometeret

Oksygenkonsentrasjonen ved start og slut måles med en oksygenelektrode. Fjerning av DOC kan også måles



Eksempel på resultat av nedbrytbarhetstest, OECD 301 F



Kriterier for lett nedbrytbarhet, OECD 301

Stoffer klassifiseres som lett nedbrytbare dersom:

- $BOD_{28}/ThOD > 60\%$
- $Produstert\ CO_2/ThCO_2 > 60\%$
- DOC - fjerning $> 70\%$

Resultatet skal oppnås innen et "10 døgns vindu" i løpet av 28 døgn



Tester for iboende (inherent) nedbrytbarhet OECD 302

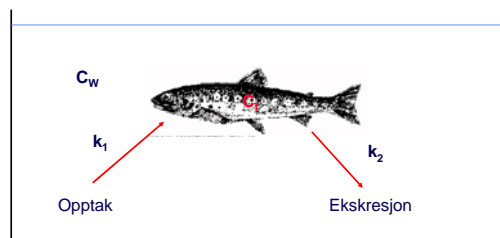
Potensiale for nedbrytning undersøkes ved mer optimale betingelser (Lengre inkubasjonstid og større mengde mikroorganismer enn i tester for lett nedbrytbarhet).

Testmetoder:

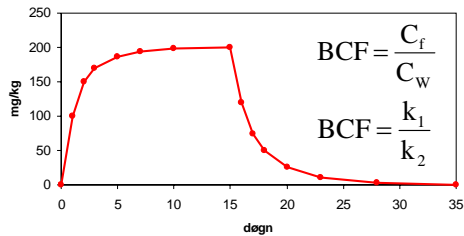
- Modified SCAS-test (Semicontinuous activated sludge)
- Zahn-Wellens test (Måler fjerning av DOC)
- Modified MITI-test II (Måler oksygenforbruk)



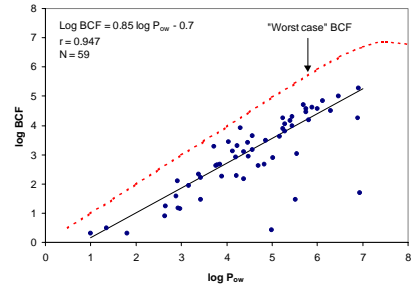
Bioakkumuleringstest, OECD 305



Bioakkumuleringstest OECD 305



Bioakkumulering/ P_{ow}



ISO Water Quality – Biological methods

ISO/TC 147/SC 5 "Water quality - Biological methods"

<p>Chairman Eric VINDIMIAN (INERIS)</p> <p>BP 2 F - 60550 VERNEUIL EN HALATTE France</p> <p>Direct line : 33 3 44 55 68 27 Fax : 33 3 44 55 66 00 Mail : Eric.Vindimian@ineris.fr</p>	<p>Secretariat Hélène CROS (AFNOR)</p> <p>11 avenue Francis de Pressensé F - 93571 Saint-Denis La Plaine Cedex France</p> <p>Direct line : 33 1 41 62 84 15 Fax : 33 1 49 17 90 00 Mail : helene.cros@afnor.fr</p>
--	---



ISO

Working groups

<p>- WG 1 <i>Toxicity – Bacteria and biodegradability</i></p>	<p>Convenor : Uwe STROTMANN (Germany) uwe.strotmann@fh-gelsenkirchen.de</p> <p>Secretariat : G. BARZ (Germany) gabriela.barz@din.de</p>
<p>- WG 2 <i>Toxicity to invertebrates</i></p>	<p>Convenor : Hans-Juergen PLUTA (Germany) hans-juergen.pluta@uba.de</p> <p>Secretariat : G. BARZ (Germany) gabriela.barz@din.de</p>
<p>- WG 3 <i>Toxicity - Fish</i></p>	<p>Convenor : G. DAVE (Sweden) goran.dave@miljo.gtu.se</p> <p>Secretariat : L. JOHANZON (Sweden) leif.johanzon@sis.se</p>



ISO

<p>- WG 5 <i>Toxicity - Algae and aquatic plants</i></p>	<p>Convenor : T. KALLQVIST (Norway) torsten.kallqvist@niva.no</p> <p>Secretariat : R. DUUS (Norway) rolf.duus@was.no</p>
<p>- WG 6 <i>Biological classification</i></p>	<p>Convenor : P. LOGAN (United Kingdom) paul.logan@environment-agency.gov.uk</p>
<p>- WG 9 <i>Genotoxicity</i></p>	<p>Convenor : Dr HANSEN (Germany) PD.hansen@tu-Berlin.de</p> <p>Secretariat : G. BARZ (Germany) gabriela.barz@din.de</p>
<p>- WG 10 <i>Statistics and calculation</i></p>	<p>Convenor : H. MAGAUD (France) helene.magaud@ineris.fr</p>
<p>- WG 11 <i>Marine biological methods</i></p>	<p>Convenor : S. COCHRANE (Norway) Sabine.Cochrane@kvaplan.niva.no</p> <p>Secretariat : R. DUUS (Norway) rolf.duus@was.no</p>



ISO - Arbeidsgang

- Forslag til ny standard fra et medlemsland
- Votering on "New Work Item"
- Tildeling til arbeidsgruppe
- Utarbeiding av "Committee Draft" (CD)
- Votering
- Utarbeiding av "Draft International Standard" (DIS)
- Votering
- Utarbeiding av Final Draft International Standard" (FDIS)
- Votering
- Publisering av standard
- Revidering av standard



ISO

Water Quality – Biological Methods

- Totalt 42 standarder (2004)
- Toksisitet: Bl.a. marine tester (alger, copepoder)
- Biologisk prøvetaking

