



O-90114

KARAKTERISERING AV AVLOPPSVATTEN FRÅN

Neste Oxo AB

Stenungsund



NIVA – RAPPORT

Norsk institutt for vannforskning



NIVA

Hovedkontor

Postboks 69, Korsvoll
0808 Oslo 8
Telefon (02) 23 52 80
Telefax (02) 39 41 89

Sørlandsavdelingen

Televeien 1
4890 Grimstad
Telefon (041) 43 033
Telefax (041) 43 033

Østlandsavdelingen

Rute 866
2312 Ottestad
Telefon (065) 76 752
Telefax (065) 78 402

Vestlandsavdelingen

Breiviken 5
5035 Bergen-Sandviken
Telefon (05) 95 17 00
Telefax (05) 25 78 90

Prosjektnr.: 0-90114
Undernummer:
Løpenummer: 2522
Begrenset distribusjon:

Rapportens tittel: Karakterisering av avløpsvatten från Neste Oxo AB, Stenungsund	Dato: 18.12.90
	Prosjektnummer: 0-90114
Forfatter (e): Torsten Källqvist	Faggruppe: Analyse
	Geografisk område: Sverige
	Antall sider (inkl. bilag): 90

Oppdragsgiver: Neste Oxo	Oppdragsg. ref. (evt. NTNF-nr.): K. Flodmark
-----------------------------	---

Ekstrakt:

En karakterisering av utgående avløpsvann fra Neste Oxo, AB i Stenungsund, Sverige er utført etter direktiver fra Statens Naturvårdsverk. Programmet omfattet kjemisk og biologisk karakterisering (toksitet og nedbrytbarhet) av prøver tatt over en uke, 6-12/6 1990. Resultatene viste toksiske effekter på akvatiske organismer ned til 2.5 % konsentrasjon. Toksiteten ble lite endret ved 4 ukers nedbrytning. Det ble ikke påvist mutagene effekter. Ca. 30% av løst organisk karbon ble omsatt ved 4 ukers nedbrytbarhetstest ved 20 °C. Innholdet av potensielt bioakkumulerbare stoffer ble bestemt til 3.7 mg/l.

4 emneord, norske:

1. Industriavløpsvann
2. Petrokjemii
3. Økotoksikologi
4. Biologisk nedbrytbarhet
Biotester

4 emneord, engelske:

1. Industrial waste water
2. Petrochemistry
3. Ecotoxicology
4. Biological degradation
Toxicity testing

Prosjektleder:

Torsten Källqvist

For administrasjonen:

Reiner J. Løkenhaler

ISBN 82-577-1833-5

Norsk Institutt for Vannforskning

O-90114

KARAKTERISERING AV AVLOPPSVATTEN

FRÅN

NESTE OXO

STENUNGSUND

Prosjektledare: Torsten Källqvist, NIVA

Medarbeidere:

NIVA

Harry Efraimssen

Randi Romstad

Åse Bakketun

SI

Berit Holestøl

**Kristinebergs Marin-
biologiska Station**

Åke Granmo

Esbjörn Telemo

Göteborgs Universitet

Sten Åke Wängberg

Sverker Molander

FÖRORD

Som ett led i kartläggningen av utsläpp från kemisk industri, har Statens naturvårdsverk anmodat Neste Oxo i Stenungsund att utföra en kemisk/biologisk karakterisering av avloppsvattnet efter riktninglinjer från Naturvårdsverkets "STORK"-projekt. Norsk Institutt for Vannforskning (NIVA), i samarbete med Senter for Industrieforskning (SI) fick i maj 1990 uppdraget att genomföra karakteriseringen.

Utöver de nämnda institutionerna har VBB konsult AB varit ansvarig för provtagning och leverans av prover till Oslo. Tester med marina alger har utförts vid Botaniska Institutionen, Göteborgs Universitet och toxicitetstester med storspigg vid Kristinebergs Marinbiologiska Station, Fiskebäckskil. Analyser av dygnprover utfördes lokalt vid Neste Oxo's egna laboratorier. Övriga tester och analyser har utförts vid NIVA och SI.

Oslo december 1990

Torsten Källqvist

INNEHÅLLSFÖRTECKNING

1. Material och metoder	4.
1.1. Beskrivning av anläggning	4.
1.2. Provtagning	4.
1.3. Provbehandling	4.
1.4. Test-och analysprogram	5.
2. Resultat	7.
2.1. Variationsstudie	7.
2.2. Blandprov	8.
2.2.1. Kemisk karakterisering	8.
2.2.2. Bioackumuleringspotential	8.
2.2.3. Toxicitet	9.
2.2.4. Mutagenitet	10.
2.2.5. Nedbrytbarhet	11.
2.2.6. Kemisk karakterisering efter nedbrytning	11.
2.2.7. Toxicitet efter nedbrytning	12.
3. Kommentarer	13.
4. Referenser	14.
APPENDIX 1. Analyser av mineralolja	15
APPENDIX 2. Priority pollutants	21
APPENDIX 3. Bioackumuleringspotential	31
APPENDIX 4. Toxicitetstest med aktivt slam	42
APPENDIX 5. Toxicitetstester med Microtox	44
APPENDIX 6. Toxicitetstester med <i>Selenastrum</i>	50
APPENDIX 7. Toxicitetstester med marina alger	57
APPENDIX 8. Akut toxicitet, <i>Nitocra spinipes</i>	63
APPENDIX 9. Reproduktionstest med <i>Nitocra spinipes</i>	66
APPENDIX 10. Akut toxicitet, Storspigg	69
APPENDIX 11. Ames test	76
APPENDIX 12. Nedbrytbarhetstester	84
APPENDIX 13. Metoder	89

1. MATERIAL OCH METODER

1.1 Beskrivning av anläggning

Anläggningen består av fyra processenheter; syntesgas, butyraldehyd, oktanol 2-etylenhexanol och mjukningsmedel (ftalater). Syntesgasen produceras av olja och syrgas, och utgör tillsammans med propen råvaror för produktionen av butyraldehyd och oktanol. Mjukningsmedlen tillverkas satsvis av i huvudsak oktanol och ftalsyraanhydrid.

Processavloppsvatten från oktanol och mjukningsmedelenheterna behandlas genom dekantering/destillering och förbränning. De renade delströmmarna blandas med dagvatten och processvatten från samtliga enheter i en koncentrationsutjämningsbassäng (luftad bassäng), där närsalter tillsätts. Efter pH-justering (svavelsyra) leds avloppsvattnet till biorotorer. Efter passering av biorotorerna justeras pH-värdet på nytt med natronlut, och järnklorid tillsätts som fällningskemikalie. Efter sedimentering tillsätts en polymer, och vattnet sandfiltreras.

1.2. Provtagning

7 dygnsprov togs ut under en vecka från 6-12.6 1990. Proverna togs med en automatisk, flödesproportionell provtagare från utloppet efter biorening och filtrering.

1.3. Provbehandling

Dygnsproverna överfördes till flaskor/kannor av polyeten som förvarades frysta. Ett delprov togs ut för analys av dygnsproverna, som utfördes lokalt inom 6 timmar efter provuttag.

Efter avslutad provtagning transporterades de frysta proverna till testlaboratorierna i Oslo, Fiskebäckskil och Göteborg. Proverna ankom Oslo med frystransport 13.6. Proverna tinades genom att kannorna placerades i rinnande vatten av ca. 15 °C, och blandades därefter proportionellt mot dygnsflödet till ett blandprov, som fördelades till de olika testerna och analyserna. Som blandningskar användes en tank av rostfritt stål, som rengjorts med aceton och destillerat vatten. Samma blandningsförhållande användes för veckoblandprovet till testen med marina alger och storspigg.

Dygnsflödet i avloppsströmmen registrerades på provtagningspunkten. Flödesregistreringarna och blandningsförhållandet redovisas i tabell 1.

Tabell 1. Dygnsflöde av avloppsvatten vid provtagningspunkten; utlopp från sedimenteringsdamm, samt blandningsförhållande av dygnsprover i blandprov.

Datum	6/6	7/6	8/6	9/6	10/6	11/6	12/6
Flöde m ³ /d	320	368	414	455	376	229	200
Blandningsförhållande %	13.6	15.6	17.5	19.3	15.9	9.7	8.5

1.4. Test-och analysprogram

Programmet för karakteriseringen är upplagt efter Statens Naturvårdsverks "STORK-projekt" (Bengtsson och medarb. 1990). I korthet går undersökningen ut på att avloppsvattnet karakteriseras med hjälp av kemiska analyser och biologiska tester. Vid de biologiska testerna undersöks avloppsvattnets giftverkan på olika vattenlevande organismer (toxicitetstester), och den mikrobiella nedbrytbarheten av organiska ämnen i avloppsvattnet.

Programmets uppläggning framgår av figur 1.

I dygnsproverna undersöktes giftverkan på bakterien *Photobacterium phosphoreum* med Microtox-test. Dessutom bestämdes provernas elektrolytiska ledningsförmåga, pH-värde samt innehållet av totalt och löst organisk kol (TOC, DOC).

Den kemiska karakteriseringen av veckoblandprovet omfattade följande parametrar:

Kemisk syreförbrukning	COD	NS 4748
Biokemisk syreförbrukning	BOD ₇	NS 4749
Totalt organiskt kol	TOC	Standard methods 505
Löst organiskt kol	DOC	Standard methods 505
Mineralolja	-	Se appendix 1
Extraherbart organiskt halogen	EOX	Se appendix 13
Priority pollutants	-	SI, Se appendix 2
Organiskt kväve	N	NS 4743, 4744, 4745
Organiskt fosfor	P	NS 4724, 4725
pH	-	NS 4720
Ledningsförmåga	-	NS4721
Suspenderat material	-	NS 4733

Avloppsvattnets innehåll av potentiellt bioackumulerbara organiska ämnen undersöktes med hjälp av en tunnskiktskromatografisk metod genom fraktionering och kvantificering av lipofila komponenter.

Mutageniciteten undersöktes med Ames test, med bakteriestammarna TA 98 och TA 100, med och utan tillsats av leverenzym S9.

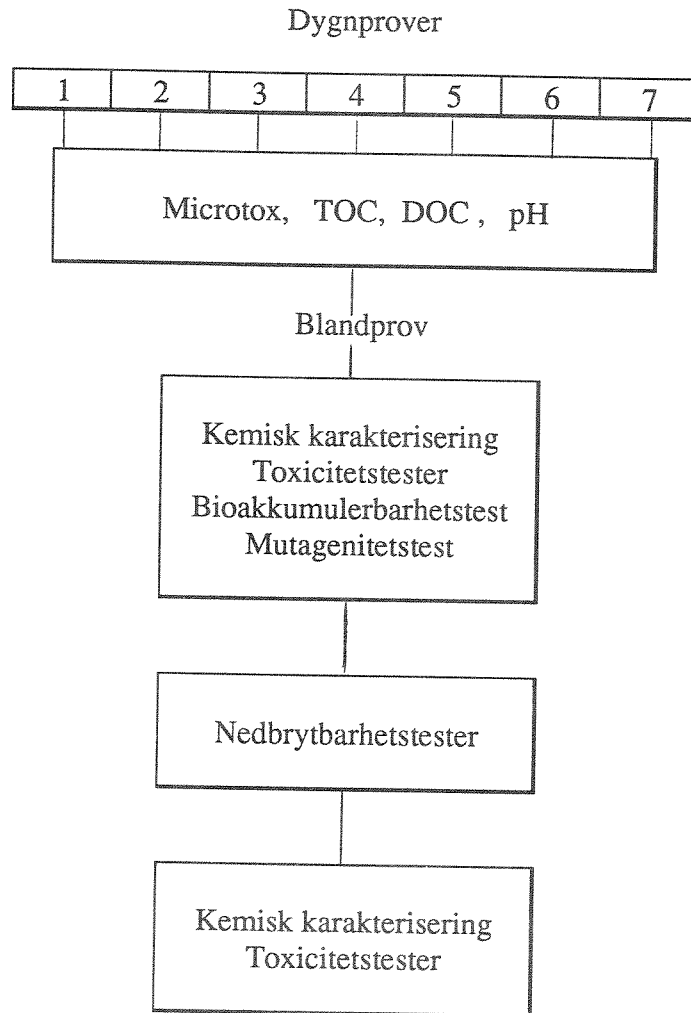


Fig. 1. Skiss av program för karakteriseringen.

Avloppsvattnets giftverkan undersöktes med 7 toxicitetstester:

Organism	parameter	metod
Heterotrofa mikroorganismer (aktivt slam)	EC ₅₀ hämning av syreförbrukning	ISO 8192
Photobacterium phosphoreum	EC ₅₀ hämning av ljusprod.	Microtox
Selenastrum capricornutum	EC ₅₀ hämning av växt	ISO
Marina alger	EC ₀ , EC ₁₀₀ hämning av växt	Blanck & Björnsäter 1989
Nitocra spinipes	LC ₅₀	DS -F 88/225
Nitocra spinipes	EC ₅₀ , reproduktion	VKI
Storspigg	LC ₅₀	SS 28162

Bionedbrytning av organiska ämnen i avloppsvattnet undersöktes enligt ISO 7827 "Water quality - Evaluation in an aqueous medium of the ultimate aerobic biodegradability of organic compounds - method by analysis of dissolved organic carbon (DOC)". Testen utfördes i 82% koncentration av avloppsvatten tillsatt standard lösningar av näringssalter och fosfatbuffer. Testtemperaturen var 20 °C .

Parallellt med denna nedbrytbarhetstest gjordes en test efter spädning av avloppsvattnet 1:2 i respirometer (ISO 9408 "Evaluation in an aqueous medium of the ultimate aerobic biodegradability of organic compounds"), med daglig registrering av syreförbrukningen. Denna test utfördes för att följa utvecklingen av BOD över tid. Testen gjordes vid 20 °C.

En tredje nedbrytbarhetstest utfördes efter spädning i saltvatten (1:2) efter en modifierad version av ISO 7827. Saltvattentesten gjordes vid temperaturen 4-5 °C. Det gjordes också en respiometrisk test i saltvatten vid samma temperatur efter en modifierad ISO 9408 metod).

Efter nedbrytningen upprepades delar av den kemiska karakteriseringen och toxicitetstesterna (utom testen med aktivt slam) av den persistenta fraktionen från nedbrytbarhetstesten ISO 7827 (20 °C, sötvattentest).

2. RESULTAT

2.1. Variationsstudie

Resultaten av analyserna av dygnsproverna redovisas i tabell 2.

Tabell 2. elektrolytisk ledningsförmåga, löst organiskt kol (DOC) och EC₅₀ (15 min.) för Microtox i dygnsprover.

Datum:		6/6	7/6	8/6	9/6	10/6	11/6	12/6
pH		7.3	7.0	7.5	7.4	7.6	7.3	7.0
TOC	mg/l	50	42	33	47	32	57	42
DOC	mg/l	15	30	36	39	21	38	38
Microtox	EC ₅₀ (%)	>100	>100	i.p.	>100	>100	i.p.	i.p.

Dygnsprovernas innehåll av TOC varierade mellan 33 och 57 mg/l. För den lösta fraktionen (DOC) var variationen 21-38 mg/l. Andelen DOC av TOC var 30 - 90%.

Microtox-testen utfördes i 4 utspädningar från 12.5 - 100%. I de flesta proverna blev EC₅₀-värdet (koncentrationen som gav 50% effekt) i Microtox beräkningsprogram bestämt till >100% koncentration. För några av proverna (8/6, 11/6 och 12/6) var dos/responsförloppet oregelbundet (t.ex. störst effekt vid intermediära koncentrationer) och de EC₅₀-värden som beräknats av modellen måste förkastas. Detta är markerat med "i.p." i tabell 2. Det är troligt att det verkliga EC₅₀-värdet för samtliga dygnsprov var >100%.

2.2. Blandprov

2.2.1. Kemisk karakterisering

Resultat av de kemiska analyserna av veckoblandprovet redovisas i tabell 3. I tabellen anges också i vilket appendix detaljerade uppgifter om de olika analyserna återfinns.

Avloppsvattnet hade ett neutralt pH-värde. Ledningsförmågan visar att innehållet av lösta salter är ganska högt (6-7 g/l). Innehållet av totalt organiskt kol (TOC) var 32 g/l, vilket är något lägre än analyserna av dygnsproverna visade. Det samma gäller för löst organiskt kol (DOC). Anledningen till detta är troligen ofullständig oxidation av det organiska materialet vid peroxidsulfatoxidationen som föregår kolanalysen. (Hovind 1990).

Mineralolja kunde inte påvisas men däremot spår av extraherbart organiskt halogen (EOX). Av gruppen "priority pollutants" påvisades 57 µg/l di-2etylhexylftalat, 11 µg/l p-nonylfenol samt spår av metylnaftalener.

Innehållet av kväveföreningar var högt i förhållande till kolinnehållet (ca. 150 mg/l). Fosforinnehållet uppgick till 4 mg/l, varav ca. 95% i form av fosfat.

Tabell 3. Resultat av kemisk karakterisering av avloppsvatten före och efter 28 dygns nedbrytbarhetstest. Värden efter nedbrytning har korrigerats för utspädning vid nedbrytbarhetstesten.

Parameter	enhet	före nedbrytn.	efter nedbrytn.	Appendix
Ledningsförmåga	mS/m	1098	-	
pH		7.22	-	
Suspenderat material	mg/l	64.8	-	
COD	mg O/l	95	85	
BOD	mg O/l	14	<2.35	
TOC	mg/l	32	22	
DOC	mg/l	25	22	
Mineralolja	mg/l	i.p.	i.p.	App. 1
EOX	mg/l	<0.02	i.p.	
Kjeldal-N	mg/l	52	-	
NO ₃	mg N/l	105	-	
Tot. P	mg/l	4	-	
PO ₄	mg P/l	3.8	-	
p-nonylfenol	µg/l	10.8	-	App. 2
di-(2-etylhexyl)ftalat	µg/l	56.9	-	App. 2
1 och 2-metylnaftalen	µg/l	<1	-	App. 2
2,3 dimetylnaftalen	µg/l	<01	-	App. 2

2.2.2. Bioackumulerbarhetspotential

Bioakkumuleringspotentialen blev undersökt i ett surt och ett basiskt extrakt av avloppsvattnet. Innehållet av kromatograferbara ämnen i de två extrakten före och

efter fraktionering med tunnskiktskromatografi visas i tabell 4. GC-kromatogrammen för de olika fraktionerna visas i appendix 3. Som potentiellt bioackumulerbara räknas ämnen med fördelningskoefficient oktanol/vatten (P_{ow}) $>10^3$. Testen visade att det sura extraktet innehöll 1.8 mg/l av ämnen med $P_{ow}>10^5$ och 1.9 mg/l med P_{ow} mellan 10^3 och 10^5 .

Tabell 4. Innehåll av kromatograferbara ämnen i surt och basiskt extrakt av avloppsvatten (mg/l). Fraktion II och III är fraktioner med fördelningskoefficient oktanol vatten (P_{ow}) $>10^5$ resp. 10^3 - 10^5 . (i.p.=icke påvisat).

Extrakt	Före extraktion	Fraktion II	Fraktion III
Surt	3.8	1.8	1.9
Basiskt	0.04	i.p.	i.p.

2.2.3. Toxicitet

Resultaten av toxicitetstesterna har sammanfattats i tabell 5. I tabellen anges också i vilket appendix testrapporterna kan återfinnas. För de heterotrofa mikroorganismerna i aktivt slam och bakterien *Photobacterium phosphoreum* (Microtox) kunde en svag hämning påvisas vid höga koncentrationer, men EC_{50} -värdet för bägge testerna var $>100\%$. I aktivt slam-testen reducerades syreförbrukningen med ca 25% vid avloppsvattenkoncentrationen 90%. En screeningtest med full avloppsvattenkoncentration gav 34% hämning i Microtox-testen.

Växten av sötvattensalgen *Selenastrum capricornutum* påverkades negativt av koncentrationer över ca. 5% (se fig. 2.). EC_{50} -värdet för växthastighet var 15% och EC_{10} -värdet 4.8%. För areal under växtkurvan, som är en annan responsparameter, som bestäms vid samma test, var EC_{50} -värdet 6%.

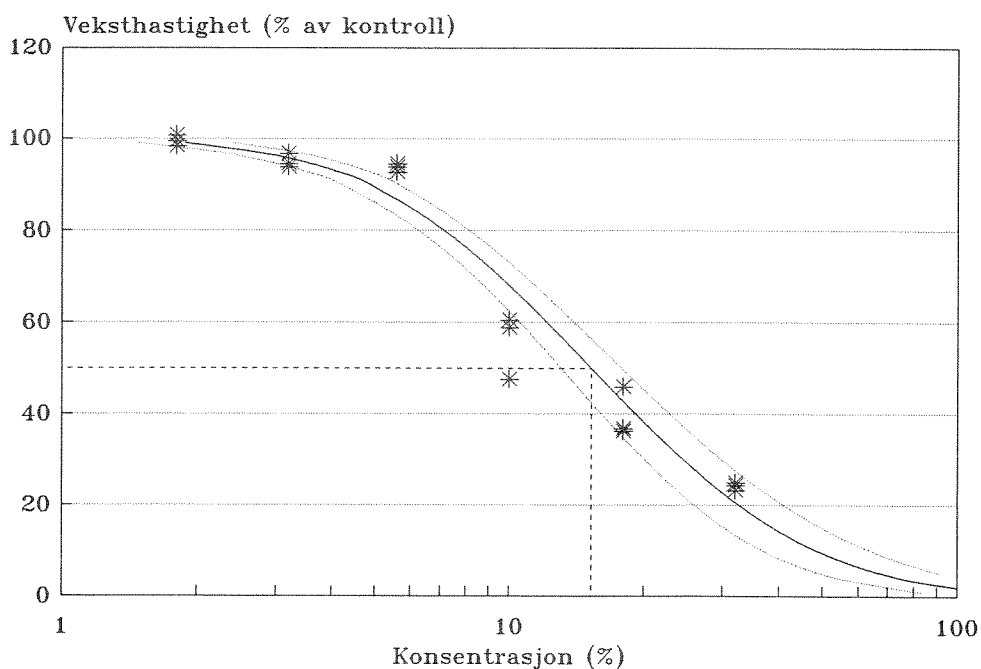
Testen med de åtta marina algerna visade EC_0 -värden från 2.5-20% efter 5 dagars inkubering. Den mest känsliga arten var kalkflagellaten *Emiliana huxleyi*. För de flesta arterna ökade EC -värdena med tiden och efter 12 dygn kunde växt registreras i den högsta testkoncentrationen (40%) för alla alger utom *E. huxleyi*. Det betyder att de övriga algerna hade förmågan att anpassa sig till avloppsvattnet, eller att gifteffekten minskade med tiden.

I akut-testen med *Nitocra spinipes* registrerades en klar ökning av dödligheten vid koncentrationer över ca. 30%. LC_{50} -värdet vid 4 dygns exponering bestämdes till 60%. Reproduktionen påverkades av koncentrationer över ca. 10%, och EC_{50} -värdet för antal unga individer som producerats pr. vuxen hona vid 14 dygns exponering var 16% (se fig. 3).

För storspigg registrerades ca. 80% dödlighet efter 3 dygn i full koncentration av avloppsvatten. LC_{50} -värdet efter 48 timmar bestämdes till 48%. EC_{50} -värdet för passivitet hos testfisken uppskattades till 35%.

Tabell 5. Toxicitet i avloppsvatten före och efter nedbrytbarhetstest. (EC- och LC-värden angivet som % avloppsvatten). EC-och LC värden efter nedbrytning har korrigerats för utspädning vid nedbrytbarhetstesten.

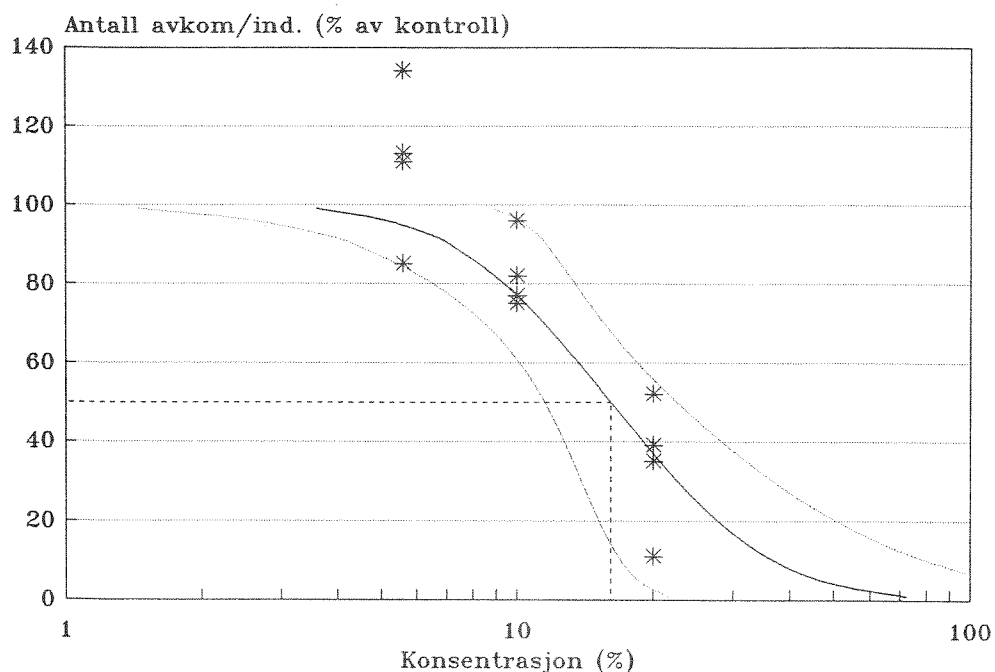
Test	respons	före nedbr.	efter nedbr.	Appendix
Aktiv slam	EC ₅₀ , syrekonsumtion	>100	-	App. 4
Microtox	EC ₅₀ , ljusprod. 15 min.	>100	>100	App. 5
Selenastrum	EC ₅₀ , växthastighet 72 tim.	15	21	App. 6
Selenastrum	EC ₅₀ , areal under växtkurva	6	6.6	App. 6
Marina alger	EC ₀ , växt (medelvärde) 5 d.	7.4	2.8	App. 7
Marina alger	EC ₀ ,växt (lägsta värde) 5 d.	2.5	1.0	App. 7
Marina alger	EC ₁₀₀ , växt (medelvärde)	49	44	App. 7
Marina alger	EC ₁₀₀ ,växt (lägsta värde)	5	17	App. 7
Nitocra spinipes	LC ₅₀ (96 timmar)	60	21	App. 8
Nitocra spinipes	EC ₅₀ , reproduksjon	16	17	App. 9
Storspigg	LC ₅₀ (48 timmar)	48	49	App. 10



Figur 2. Effekt av avloppsvattnet på växthastigheten hos *Selenastrum capricornutum*. 100% växthastighet=växthastighet i kontrollkulturer. Prickade linjer=95% konfidensintervall för responskurvan (Probit-analys). Streckad linje anger 50% respons (EC₅₀)

2.2.4. Mutagenitet

Ames test utförd på avloppsvattnet visade inga mutagena effekter vid dosering av upp till 20 µl extrakt. Försök med högre doser (50 och 100 µl) visade toxiska effekter på bakterierna. (Se appendix 11).



Figur 3. Effekt av avloppsvattnet på reproduktion hos *Nitocra spinipes*. Streckade linjer anger 95% konfidensintervall runt responskurvan, som beräknats genom probit-analys.

2.2.5. Nedbrytbarhet

Nedbrytbarhetstesterna är redovisade i appendix 12. Huvudtesten för nedbrytbarhet vid 20 °C visade ett långsamt nedbrytningsförlopp. Reduktionen av DOC var 22% efter en vecka, men ökade därefter mycket långsamt till 33% efter 4 veckor. (Se fig. 4). Testen i respirometer, där också syreförbrukningen registrerades visar samma utveckling. (Se fig. 5). Bio-oxidationen mätt som BOD är emellertid osäker p.g.a. vattnets höga innehåll av ammonium. Nitrifikation kan ha bidragit till syreförbrukningen. DOC-analyser vid respirometer testen visade lägre reduktion (20%) än i huvudtesten.

I saltvattenstesterna av nedbrytbarhet som gjordes vid 4-5 °C uppmättes reduktionen i DOC under 4 veckor till endast 0-3.5%. Trots detta var syreförbrukningen omräknat till full avloppsvattenkoncentration totalt ca. 30 mg O/l (BOD₂₈). Orsaken till denna syreförbrukning är troligtvis avloppsvattnets höga innehåll av ammonium som oxiderats under nedbrytbarhetstesten (nitrifikation).

2.2.6. Kemisk karakterisering efter nedbrytning

Resultaten av de kemiska analyserna, som utfördes på avloppsvattnet efter nedbrytning, redovisas i tabell 3. Den kemiska syreförbrukningen (COD) var 85 mg/l, vilket är 11% lägre än innan nedbrytning. Reduktionen av COD är alltså lägre än reduktionen av DOC vid nedbrytbarhetstesten (33%) Detta kan bero på att icke-organiska föreningar bidrar till den kemiska syreförbrukningen. För TOC är reduktionen något större (ca. 40%), men analysen av TOC är mer osäker p.g.a. ofullständig oxidering av partikulärt material. Den biokemiska syreförbrukningen (BOD) var som väntat mycket låg efter nedbrytbarhetstesten.

Innehållet av EOX, som var lågt men kunde påvisas i avloppsvattnet innan nedbrytning, kunde inte påvisas efter nedbrytbarhetstesten.

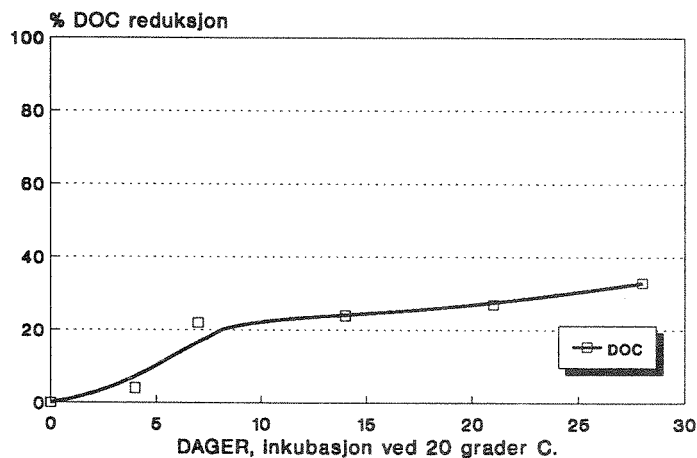
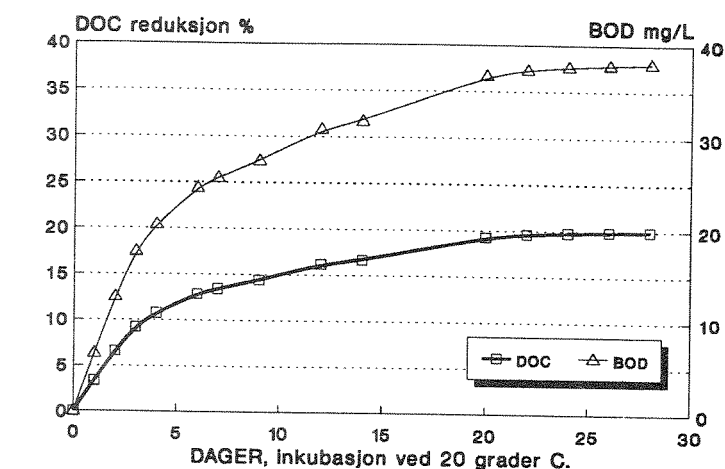


Fig. 4. Koncentrationer av DOC mätt vid nedbrytbarhetstest vid 20 °C.



Middelvärde av 4 paralleller for BOD

Fig. 5. Syreförbrukning vid nedbrytbarhetstest vid 20°C. Den undre kurvan indikerar DOC-förlopp på basis av syreförbrukning.

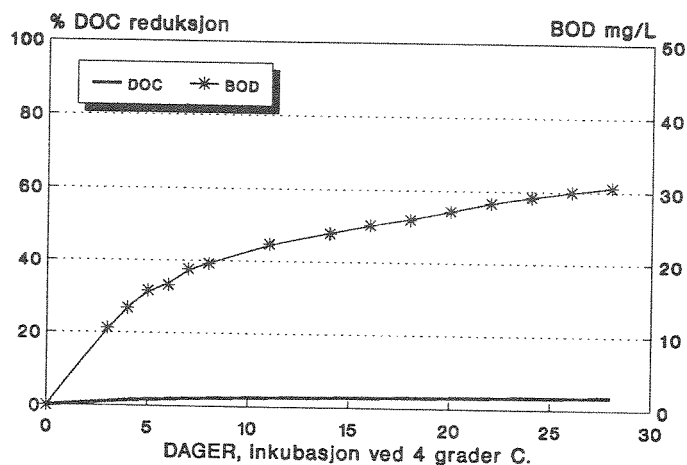


Fig. 6. Syreförbrukning och DOC reduktion i respirometrisk nedbrytbarhetstest i saltvatten vid temperaturen 4 °C.

2.2.7. Toxicitet efter nedbrytning

Resultaten av toxicitetstesterna efter nedbrytbarhetstesten redovisas i tabell 5. Bionedbrytningen medförde en något minskad toxicitet i några av testerna, och ökad toxicitet i andra. Ändringen i toxicitet var överlag ganska liten. Effekten på Microtox var för svag för att tillåta bestämning av EC_{50} -värdet. En screening-test vid full koncentration (d.v.s. 82 % koncentration när man tar hänsyn till utspädningen vid nedbrytbarhetstesten) gav 31% hämning, vilket är ungefär det samma som före nedbrytning.

För sötvattensalgen *Selenastrum capricornutum* var EC_{50} -värdet för hämning av växthastigheten 26%, vilket är 1.4 ggr. högre än före nedbrytning. För den andra responsparametern som bestämdes vid testen, areal under växtkurvan, var ändringen i toxicitet inte signifikant.

EC_0 -värdena för marina alger var lägre efter nedbrytning än före. Detta skulle tyda på att giftigheten ökat vid bionedbrytningen. Några av EC_{100} -värdena visar emellertid en motsatt tendens, vilket betyder att responskurvorna har ett flackare förlopp efter nedbrytning.

Den akuta toxiciteten på kräftdjuret *Nitocra spinipes* var också högre efter nedbrytning ($LC_{50} = 21\%$). I reproduktionstesten var effekten däremot oförändrad ($EC_{50} = 17\%$). Effekter på reproduktionen uppträder alltså först vid koncentrationer i närheten av LC_{50} -värdet, vilket är anmärkningsvärt. Samma förhållande påpekades vid undersökningarna som utfördes i samband med MUST-utredningen 1983. (Granmo 1984).

Toxicitetsterna med storspigg visade samma LC_{50} -värde efter nedbrytning som före (ca. 50%), när man tar hänsyn till utspädningen vid nedbrytbarhetstesten.

3. KOMMENTARER

I det utgående avloppsvattnet från Neste Oxo i Stenungsund är innehållet av organiskt material av samma storleksordning som i kemiskt renat kommunalt avloppsvatten. Den biologiska nedbrytbarheten av detta är emellertid låg, särskilt vid låga temperaturer i saltvatten. Den relativt stora andelen persistent eller svårnedbrytbart material är ett resultat av att den lätt nedbrytbara organiska fraktionen till största delen har omsatts i det biologiska reningssteget. Resultaten av nedbrytbarhetstesterna överensstämmer med vad som rapporterades vid den tidigare "MUST"-utredningen (Granmo 1986). Också vid undersökningen 1983 konstaterades således obetydlig nedbrytning vid +4 °C.

De specifika analyserna av organiska ämnen förklarar bara en liten del av det totala organiska materialet. Det blev funnet spår av extraherbart organiskt bundet halogen, metyl- och dimetylnaftalener samt c.a. 11 µg/l av p-nonylfenol. Innehållet av di-etylhexylftalat var 57 µg/l. Denna förening blev också funnen vid "MUST"-undersökningen 1983, men då i betydligt högre koncentration (1430 µg/l).

Innehållet av kväveföreningar är högt, medan fosforinnehållet är jämförelsevis lågt. Kväveutsläppet motsvarar ca. 4000 personekvivalenter i kommunalt avloppsvatten.

Gift effekter på alger kunde påvisas vid koncentrationer över ca. 3%. För övriga testade organismer var toxiciteten lägre. Koncentrationer omkring 50-60% orsakade 50% dödlighet hos storspigg och kräftdjuret *Nitocra spinipes*. Mikrobiell nedbrytning i fyra veckors nedbrytbarhetstest gav ingen entydig reduktion av avloppsvattnets toxicitet. Den marina algtesten och akut-testen med *Nitocra* visade t.o.m. högre giftighet efter nedbrytning. Detta tyder på att de ämnen som förorsakar gifteffekten

till en stor del är persistenta, och eventuellt att nya toxiska komponenter tillkommer vid nedbrytning.

Jämfört med de toxicitetstester som utfördes vid MUST-utredningen var både akut och kronisk giftighet på *Nitocra* lägre vid denna undersökning. Testen med Storspigg och flera av de marina algerna tyder emellertid på en något ökad toxicitet.

Utspädning av avloppsvattnet i recipienten kommer snabbt att reducera koncentrationen under den nivå som ger gifteffekter vid korttidsexponering. Eftersom de toxiska komponenterna inte är identifierade och till största delen persistenta och dessutom att potentiellt bioakkumulerbara ämnen har konstaterats, kan emellertid miljöeffekter inte uteslutas.

4. REFERANSER

Bengtsson, B.E., Björklund, I. och Wahlberg, C. (1990): Effluents from the Chemical Industry - Programme for characterization of persistence and effect (The STORK project). Version 4 (1990-03-08). Statens Naturvårdsverk.

Blanck, H. and Björnsäter, B. (1989): The algal microtest battery - A manual for routine tests of growth inhibition. KEMI report 3/89.

Granmo, Å. (1984): Delprojekt vatten. Översiktsplan samt biologiska tester av industriavloppsvatten från Stenungsund. Naturvårdsverket, Rapport SNV PM 1845

Granmo, Å. (1986): Delprojekt vatten. Slutrapport, MUST, Miljöutredningen för Stenungsund. Rapport nr. 36. Statens Naturvårdsverk Rapport 3200.

Hovind, H. (1990): Bestemmelse av organisk stoff i avløpsvann. NIVA Rapport 2386.

APPENDIX 1

Analyser av mineralolja

Mineralolje

Analysemetode

Ved mottak ble prøvene surgjort til pH 1 med svovelsyre og oppbevart ved 4 °C intil de ble analysert.

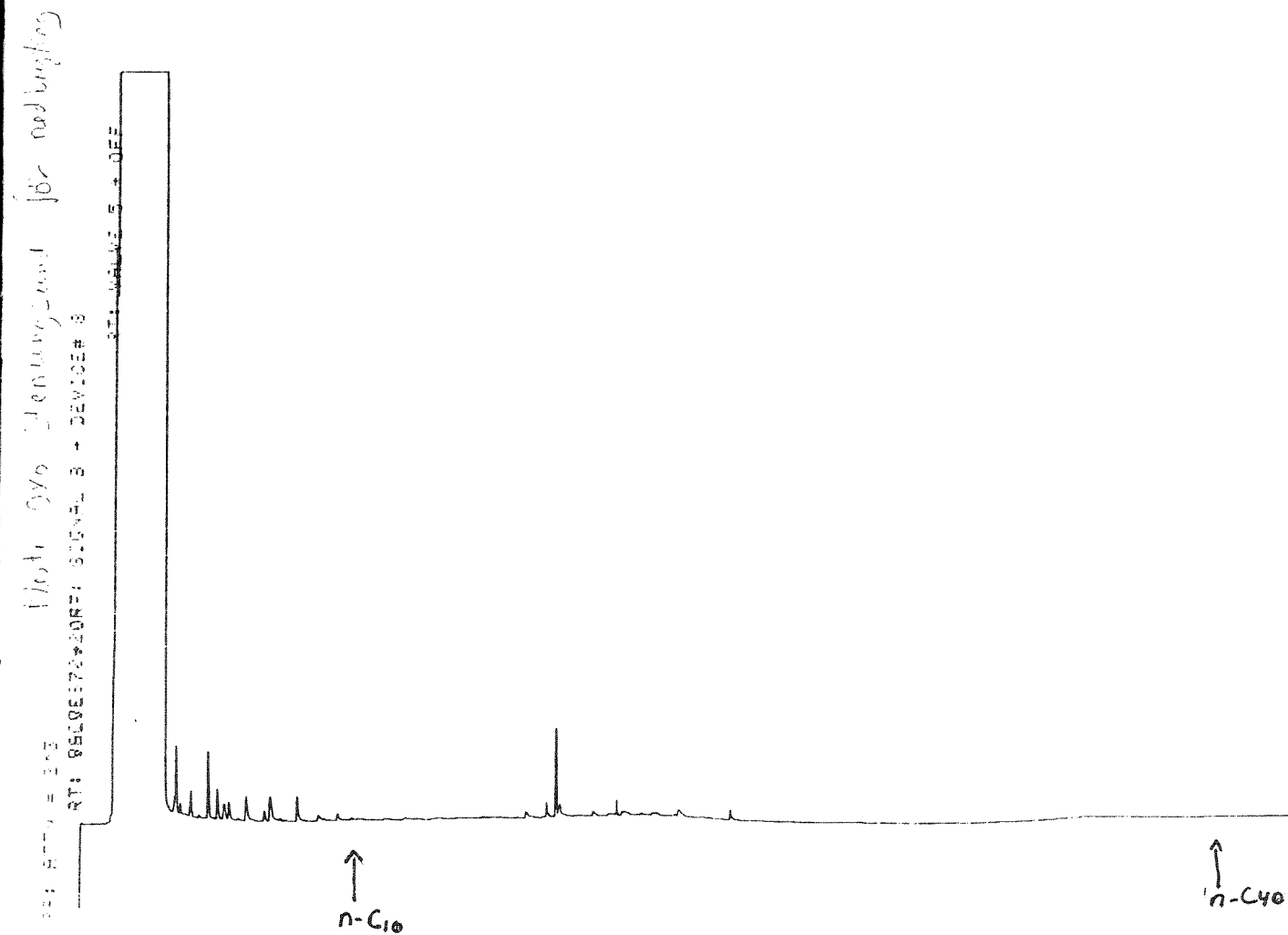
Prøvene ble ekstrahert med diklormetan. Prøveekstraktene ble rensset på en silica kolonne (Bond elut) for å fjerne polare forbindelser, før de ble analysert med gasskromatografi (GC). Denne teknikken gir opplysning om fordeling av ulike komponenter i prøven som funksjon av kokepunkt. Dette vil gi opplysning om hvilken oljetype prøven består av (mønsterkjennetegn). Dersom gasskromatogrammet ikke viser en kjent oljeprofil, vil det være nødvendig med gasskromatografi-massespektrometri (GC-MS) analyse for å fastslå hvilke forbindelser en prøve består av.

Som blindprøve ble 2 l springvann ekstrahert og opparbeidet nøyaktig som de øvrige prøvene.

Resultat

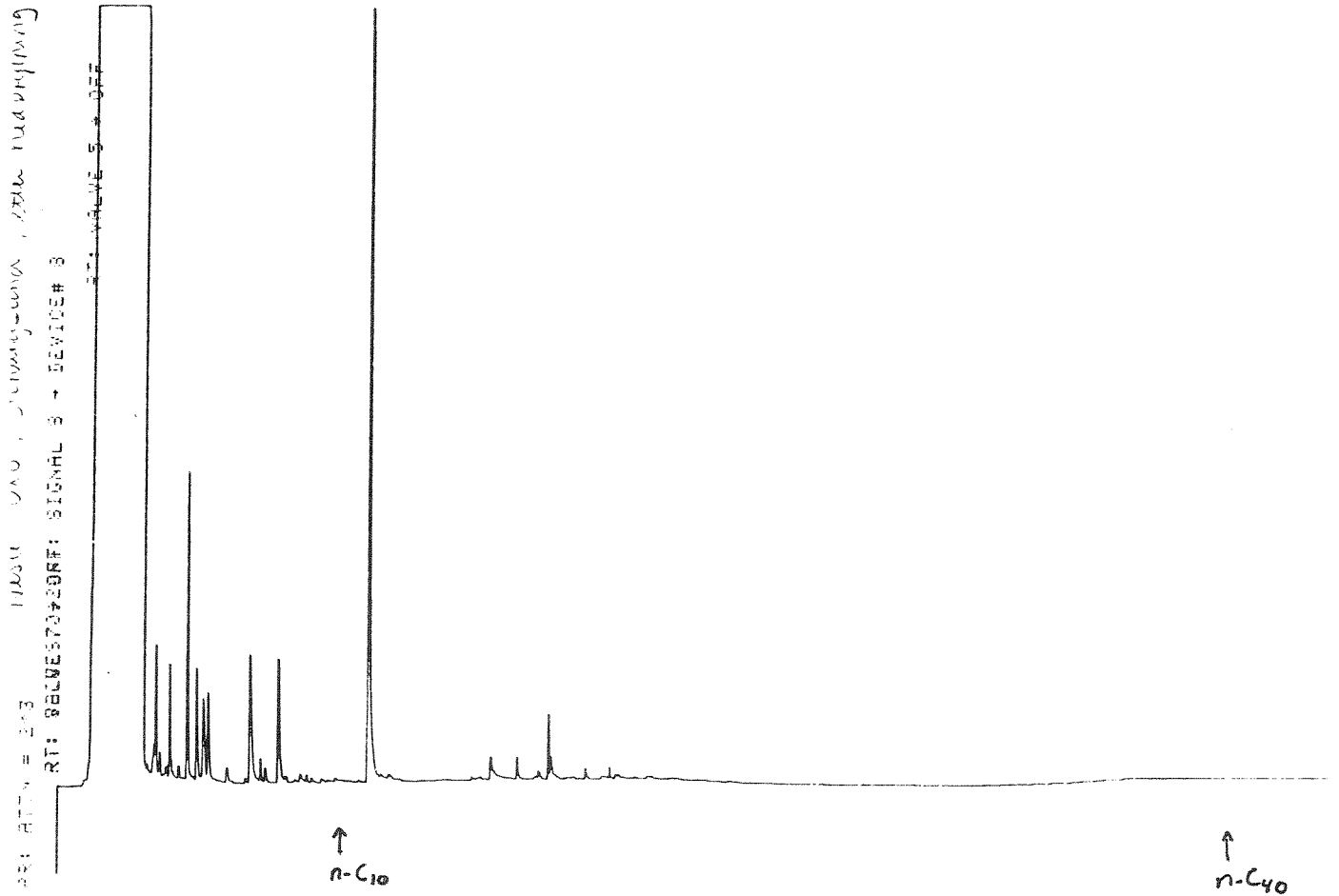
Det ble ikke påvist hydrokarboner i avløpsvannet før og etter nedbrytning. Påvisningsgrensen for denne analysen er satt til 0.05 mg/l.

Kromatogrammene for prøvene før og etter nedbrytning er vedlagt.

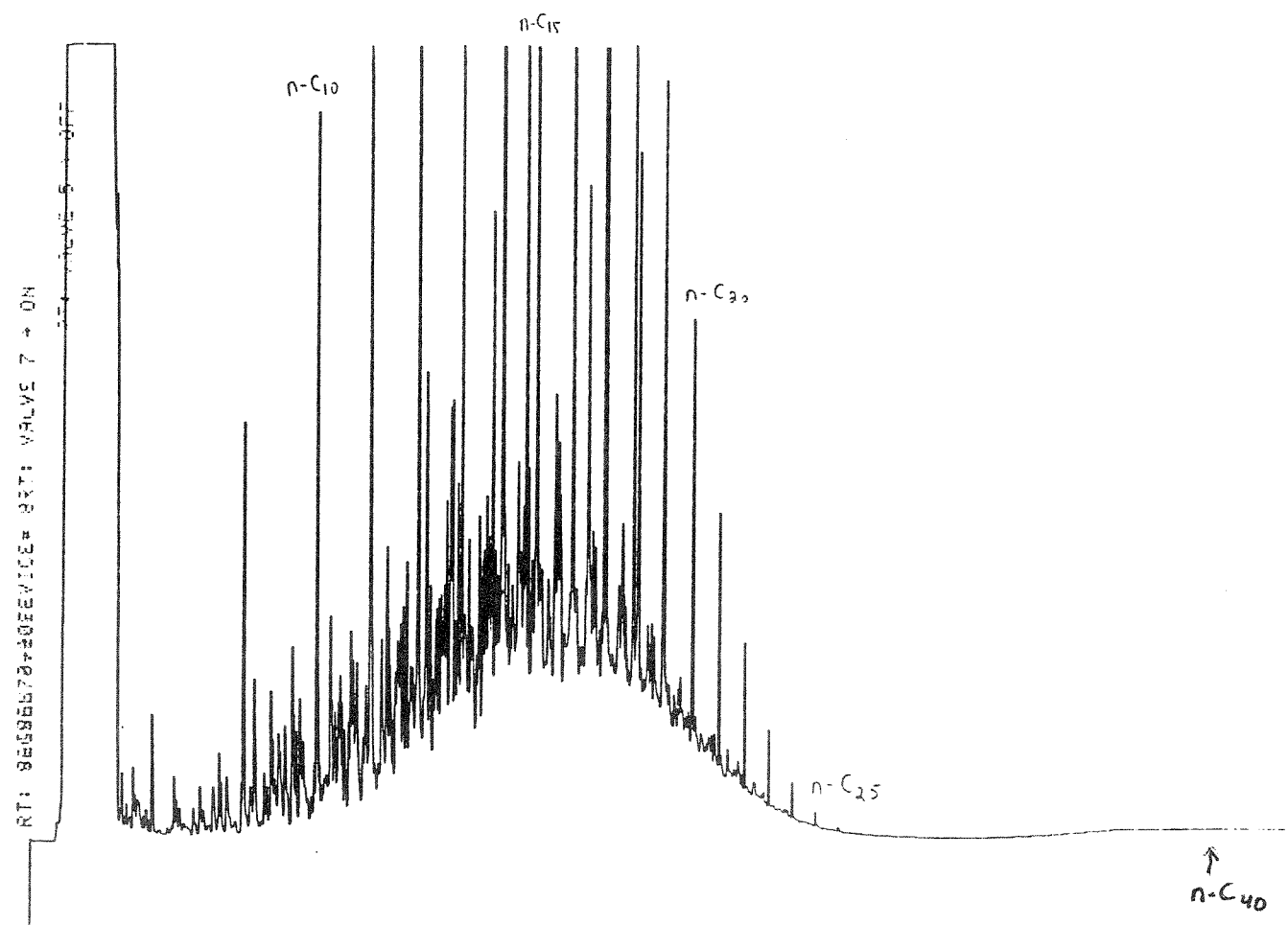


Figur 3

Neste Oxo, Stenungsund før nedbryting
Prøvevolum: 2017 ml
Ekstraktvolum: 1 ml
Mengde hydrokarboner: < 0.05 ppm

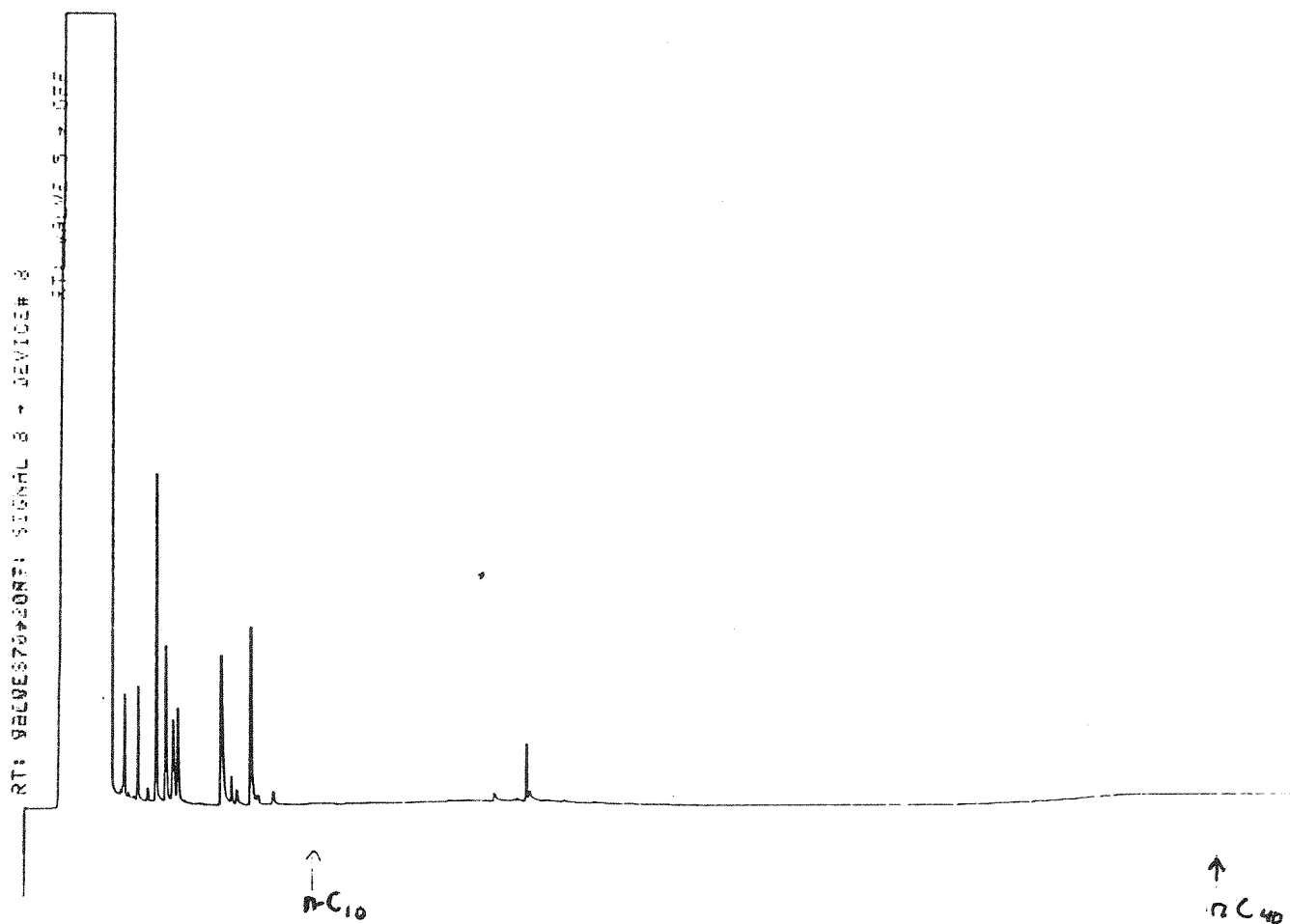
**Figur 4**

Neste Oxo, Stenungsund etter nedbryting
Prøvevolum: 1983 ml
Ekstraktvolum: 1 ml
Mengde hydrokarboner: < 0.05 ppm



Figur 12

Standard marin diesel



Figur 11

Blindprøve, springvann
Prøvevolum: 2000ml
Ekstraktvolum: 1 ml
Mengde hydrokerverner: < 0.05 ppm

APPENDIX 2

Priority pollutants

900802 v/Bent Høgestøl, SI.

RAPPORT

Deres ref.	Deres henv. av	SI's saksbehandler HVD/kmh	Dato 19.09.90
Oppdragets tittel AVLØPSVANN			Oppdrag nr
ANALYSE AV "PRIORITY POLLUTANTS" I TO PRØVER			442-1054

Vi mottok to vannprøver for analyse av "Priority Pollutants". Prøvene var merket:

- | | | |
|-------------|--------------|-----------------------|
| 1) Ukeprøve | NESTE OXO, | Stenungsund. 900618-1 |
| 2) Ukeprøve | BEROL NOBEL, | Stenungsund. 900618-1 |

RESULTAT

Tabellene 1 og 2 viser innholdet av "Priority Pollutants" komponenter i de to prøvene. I prøve 1 ble bare p-nonylfenol og di-(2-etylheksyl)ftalat påvist i kvantifiserbare mengder.

Prøve 2 inneholder i tillegg dioksan, fenol og antagelig benzenmetanol. Benzenmetanol er ikke med i Priority Pollutants listen, men forbindelsen har et massepektrum som er svært likt spektret av kresoler.

Forbindelser som står oppført under gruppen fenoler, var vanskelig å analysere i disse to prøvene. Årsaken er interferens mellom tilsatt intern standard, deuterert fenol, og andre forbindelser i prøven.

Kvantifiseringsgrenser og metodebeskrivelser er også vedlagt.

→ Med vennlig hilsen
Senter for industriforskning

Nina Gjøes

Hilde Drangsholt
Hilde Drangsholt

Kopi gitt Bent Høgestøl, SI.

Tabell 1: "Priority Pollutants" i avløpsvann fra NESTE OXO, Stenungsund
900618-1

MONO- OG BICYKLISKE AROMATER: UG/L

Benzen	
Toluen	
Etylbenzen	
m-/p-Xylen	
o-Xylen	
Styren	
Naftalen	*
2-Metylnaftalen	*
1-Metylnaftalen	*
2,3-Dimetylnaftalen	
2,3,5-Trimetylnaftalen	
Bifenyl	

POLYCYKLISKE AROMATISKE HYDROKARBONER:

Dibenzofuran
Fenantren
Dibenzotiofen
Pyren
Fluoranten
Benzo(b)fluoren
Benzo(a)antracen
Krysen/Trifenylen
Benzo(e)pyren
Benzo(a)pyren
Indeno(1,2,3-c,d)pyren
Benzo(ghi)perylen
Benzo(b/j/k)fluoranten

KLORERTE AROMATER:

Klorbenzen
1,3-Diklorbenzen
1,4-Diklorbenzen
1,2-Diklorbenzen
1,2,4-Triklorbenzen
Pentaklorbenzen
Heksaklorbenzen
Oktaklorstyren
Tetraklorbifenyl
Pentaklorbifenyl
Heksaklorbifenyl
Diklor-p-cymen

Tabell 1 (forts)

Prøve: Avløpsvann fra NESTE OXO, Stenungsund 900618-1

FENOLER: UG/L VANN

Fenol	
o-Kresol	
m-/p-Kresol	
2-Nitrofenol	
p-Nonylfenol	10.8
2,4,6-Triklorfenol	
Pentaklorfenol	
Tetraklorguajakol	

PESTICIDER:

Lindan
4,4'-DDE
4,4'-DDD
4,4'-DDT

FTALATER/ADIPATER:

Dimetylftalat	
Dietylftalat	
Di-n-butylftalat	
Butylbenzylftalat	
Di-(2-etylheksyl)ftalat	56.9
Di-(2-etylheksyl)adipat	

FOSFAT-ESTERE:

Tri-n-butylfosfat
Trifenylfosfat
Trikresylfosfat

AROMATISKE NITROGEN-FORBINDELSER:

Nitrobenzen
Difenylamin

ETERE:

Dioksan

Tabell 1 (forts)

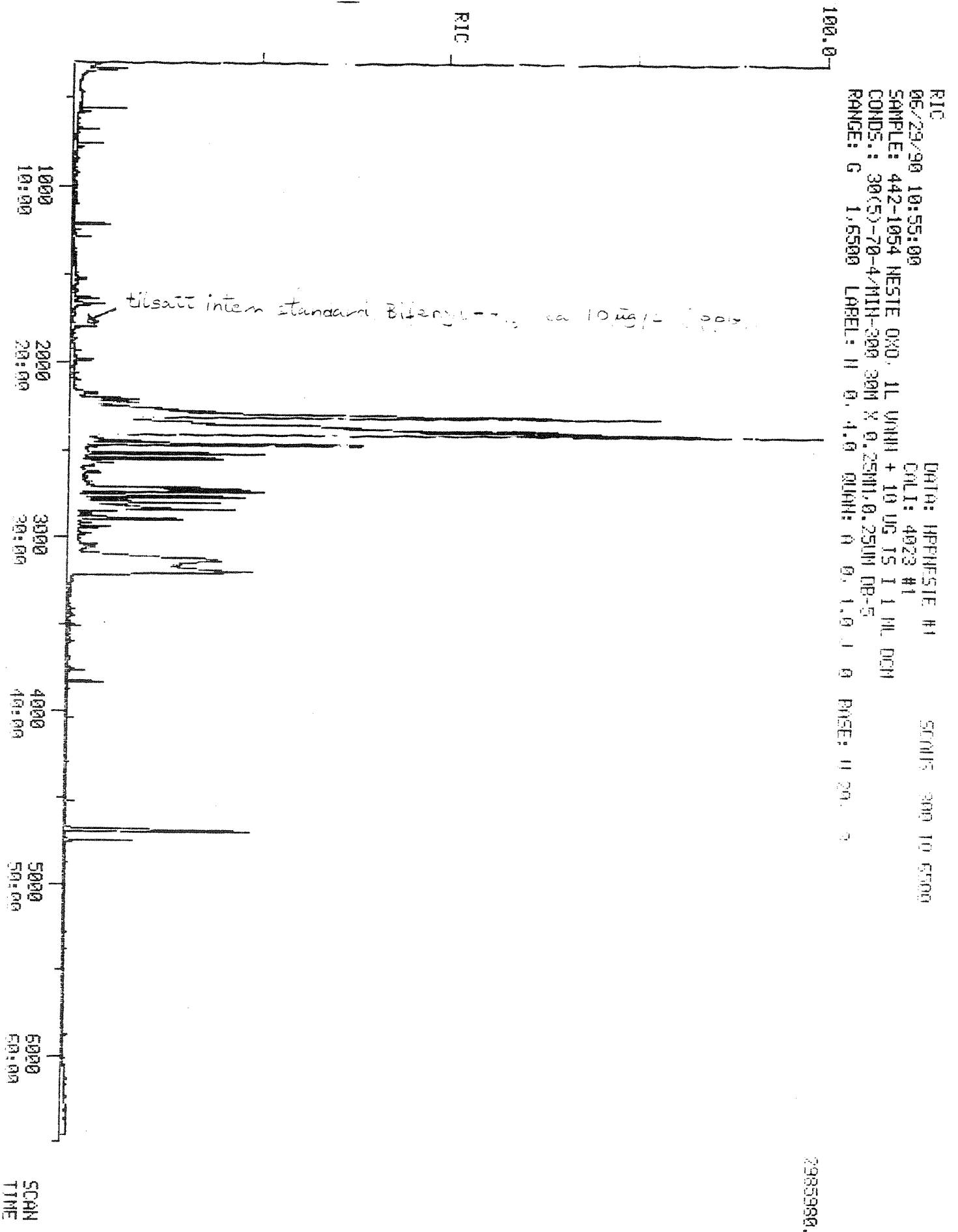
Prøve: Avløpsvann fra NESTE OXO, Stenungsund 900618-1

HALOGENERTE ALIFATER:

UG/L VANN

Kloroform
Bromdiklormetan
Dibromklormetan
Bromoform
Tetraklormetan
Trikloretan
1,1,1-Trikloretan
1,1,2-Trikloretan
Tetrakloretan
Heksakloretan

*: Mengden er mindre enn kvantifiserings-grensen,
men arealet er minst 3.0 ganger større enn arealet i blind-prøven.
!: Mengdene er over kvantifiseringsgrensen.



Tabell 2: "Priority Pollutants" i avløpsvann fra BEROL NOBEL, Stenungsund
900618-1

MONO- OG BICYKLISKE AROMATER: UG/L

Benzen	
Toluen	
Etylbenzen	*
m-/p-Xylen	*
o-Xylen	*
Styren	
Naftalen	*
2-Metylnaftalen	
1-Metylnaftalen	
2,3-Dimetylnaftalen	
2,3,5-Trimetylnaftalen	
Bifenyl	

POLYCYKLISKE AROMATISKE HYDROKARBONER:

Dibenzofuran
Fenantren
Dibenzotiofen
Pyren
Fluoranten
Benzo(b)fluoren
Benzo(a)antracen
Krysen/Trifenylen
Benzo(e)pyren
Benzo(a)pyren
Indeno(1,2,3-c,d)pyren
Benzo(ghi)perylen
Benzo(b/j/k)fluoranten

KLORERTE AROMATER:

Klorbenzen
1,3-Diklorbenzen
1,4-Diklorbenzen
1,2-Diklorbenzen
1,2,4-Triklorbenzen
Pentaklorbenzen
Heksaklorbenzen
Oktaklorstyren
Tetraklorbifenyl
Pentaklorbifenyl
Heksaklorbifenyl
Diklor-p-cymen

Tabell 3 (forts)

KVANTIFISERINGS-GRENSER: FENOLER:	UG/L		
FENOL	10.00	-	100.
O-KRESOL	10.00	-	100.
M-/P-KRESOL	20.00	-	200.
2-NITROFENOL	1.00	-	100.
P-NONYLFENOL	10.00	-	1000.
2, 4, 6-TRIKLORFENOL	1.00	-	100.
PENTAKLORFENOL	5.00	-	100.
TETRAKLORGUAJAKOL	5.00	-	100.
PESTICIDER:			
LINDAN	1.00	-	100.
4, 4' -DDE	1.00	-	100.
4, 4' -DDD	1.00	-	100.
4, 4' -DDT	1.00	-	100.
FTALATER/ADIPATER:			
DIMETYLF TALAT	1.00	-	100.
DIETYLF TALAT	1.00	-	100.
DI-N-BUTYLF TALAT	10.00	-	100.
BUTYLBENZYLF TALAT	1.00	-	100.
DI-(2-ETYLHEKSYL) FTALAT	10.00	-	100.
DI-(2-ETYLHEKSYL) ADIPAT	1.00	-	100.
FOSFAT-ESTERE:			
TRI-N-BUTYLFOSFAT	1.00	-	100.
TRIFENYLFOSFAT	1.00	-	100.
TRIKRESYLFOSFAT	5.00	-	100.
AROMATISKE NITROGEN-FORBINDELSER:			
NITROBENZEN	1.00	-	100.
DIFENYLAMIN	1.00	-	100.
ETERE:			
DIOKSAN	1.00	-	100.

Tabell 3 (forts)

KVANTIFISERINGS-GRENSER: HALOGENERTE ALIFATER:	UG/L
DIKLORMETAN	1.00 - 100
KLOROFORM	1.00 - 100
BROMDIKLORMETAN	1.00 - 100
DIBROMKLORMETAN	1.00 - 100
BROMOFORM	1.00 - 100
TETRAKLORMETAN	1.00 - 100
TRIKLORETEN	1.00 - 100
1,1,1-TRIKLORETAN	1.00 - 100
1,1,2-TRIKLORETAN	1.00 - 100
TETRAKLORETEN	1.00 - 100
HEKSAKLORETAN	1.00 - 100

PRIORITY POLLUTANTS I VANN

1 l vannprøve tilsettes 10 µg deutererte standarder (toluen-d₈, naphthalen-d₈, bifenyl-d₁₀, fenantren-d₁₀, pyren-d₁₀, krysen-d₁₂ og fenol-d₆).

Prøven blir ekstrahert med diklormetan først surt (pH=2), deretter basisk (pH 12). Ekstraktet dampes inn til 1 ml og analyseres med koblet gasskromatografi/- massespektrometri (GC/MS). Prøven kvantifiseres vha. standardløsninger opparbeidet likt med prøven.

De halogenerte alifatene bestemmes i et uinndampet pentanekstrakt vha. gasskromatograf med electron capture detector (GC/ECD).

Instrumentbetingelser

Massespektrometer	:	Finnigan 4023
Gasskromatograf	:	Finnigan 9610
Datasystem	:	Super Incos, NOVA 4X
Disk-drive	:	Priam. 70M byte
GC-kolonne	:	30m x 0.25mm, 0,25µm DB-5
Temperaturer		
Kolonne	:	30°C(5 min)-70°C-4°C/min-300°C(10 min [^])
Injektor	:	270°C
Interface	:	250°C
Ionekilde	:	250°C
Bæregass	:	He
Ionisering	:	70 eV
Scan frekvens	:	0.6 sec/scan
Masseområde	:	35-400
Injeksjon	:	2 µl

APPENDIX 3

Bioakkumuleringspotential

Vedlegg

METODE FOR BESTEMMELSE AV POTENSIELT BIOAKKUMULERBARE SUBSTANSER.

Surt ekstrakt

Vannprøven ble først ekstrahert 2 ganger med heksan ved pH ca.2 (justert med svovelsyre). Eventuell emulsjon ble fjernet ved utsalting med natriumklorid. Ekstraktene ble kombinert, vasket med vann pH ca.2 og tørket med natriumsulfat. Ekstraktet ble oppkonsentrert til lite volum, (1-5ml.) analysert gasskromatisk og viderefeksjonert på tynnsjikt (TLC) i tre fraksjoner.

I Fraksjon: Applikasjonsone

II " : $10^5 > P_{ow} > 10^3$

III " : $P_{ow} > 10^3$

Basisk ekstrakt

Den sure vannprøven ble gjort basisk med natriumhydroksydpastiller til pH ca.11 og ekstrahert 2 ganger med heksan. Heksanekstraktet ble vasket med vann pH ca.11 og forøvrig ble den samme fremgangsmåten fulgt som for det sure ekstraktet.

Lipofile eller potensielt bioakkumulerbare organiske forbindelser ble bestemt ved tynnsjiktskromatografi av heksanekstrakter av vannprøvene. Metoden er en tillempning av en metode utarbeidet av Lars Renberg et al.¹ Substanser med en fordelingskonstant oktanol/vann $P_{ow} > 10^3$ ble regnet som potensielt bioakkumulerbare. Fraksjonene ble utskrapet og ekstrahert med aceton/hexan (1:1) 3 ganger. De samlede Aceton/heksan-ekstraktene ble ristet med vann pH ca.2 for surt ekstrakt, med vann pH ca.11 for basisk ekstrakt og vann/acetonfasen ble skilt fra. Heksanekstraktet ble vasket med vann (surt for surt ekstrakt, basisk for basisk ekstrakt) og tørket med natriumsulfat.

Den potensielt bioakkumulerbare mengden i hvert ekstrakt ble bestemt ved gasskromatografisk analyse med flammejonisasjonsdetektor (FID). Arealet av de enkelte toppene relatert til en ytre standard $C_{18}H_{38}$ ga et mål for mengden organiske kromatograferbare forbindelser. Med kromatograferbare forbindelser menes i dette tilfelle organiske substanser med en molekylvekt opp til ca.500, som kan analyseres gasskromatografisk. Ved beregningen ble det antatt at de potensielt bioakkumulerbare forbindelsene har lik respons med den utvalgte ytre standarden. Vår erfaring er at responsen med FID-detektor for ulike organiske forbindelser kan variere med opptil 50%. Dette betyr at metoden må betraktes som semikvantitativ. Blindprøve ble opparbeidet og kjørt parallelt med prøveekstraktet.

Testbetingelser ved GC-analysen:

Kapillærkolonne, fused silica, DB5,
1.30 m indre diameter.=0,24 mm

Program:

Starttemp.60°C, Henstand 2 min.

Oppvarmingshastighet 5°C

Sluttemp.280°C, Henstand 8 min.

Attn. før TLC 2⁵

Attn. etter TLC 2³

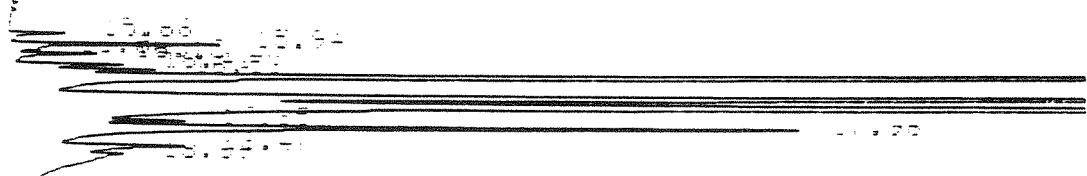
Ytre standard n-C₁₈H₃₈=106,9µg/ml før TLC

Indre standard " " etter TLC

1) Lars Renberg et al., Chemosphere, Vol. 9, 1980, s.683-691.

RT: 0.0000 0.0000 INTG + ON

0.01
0.02
0.03



10.00
11.00
12.00
13.00
14.00
15.00
16.00
17.00
18.00
19.00
20.00
21.00
22.00
23.00
24.00
25.00
26.00
27.00
28.00
29.00
30.00
31.00
32.00
33.00
34.00
35.00
36.00
37.00
38.00
39.00
40.00
41.00
42.00
43.00
44.00
45.00
46.00
47.00
48.00
49.00
50.00
51.00
52.00
53.00
54.00
55.00
56.00
57.00
58.00
59.00
60.00
61.00
62.00
63.00
64.00
65.00
66.00
67.00
68.00
69.00
70.00
71.00
72.00
73.00
74.00
75.00
76.00
77.00
78.00
79.00
80.00
81.00
82.00
83.00
84.00
85.00
86.00
87.00
88.00
89.00
90.00
91.00
92.00
93.00
94.00
95.00
96.00
97.00
98.00
99.00
100.00

RT: 0.0000 0.0000 INTG + ON

For TLC
900618-102 sur
Neote OXO
Steinungsund

RT: INTG + OFF

RT: SLICES 0.0527; INTG + ON

17.84

18.14

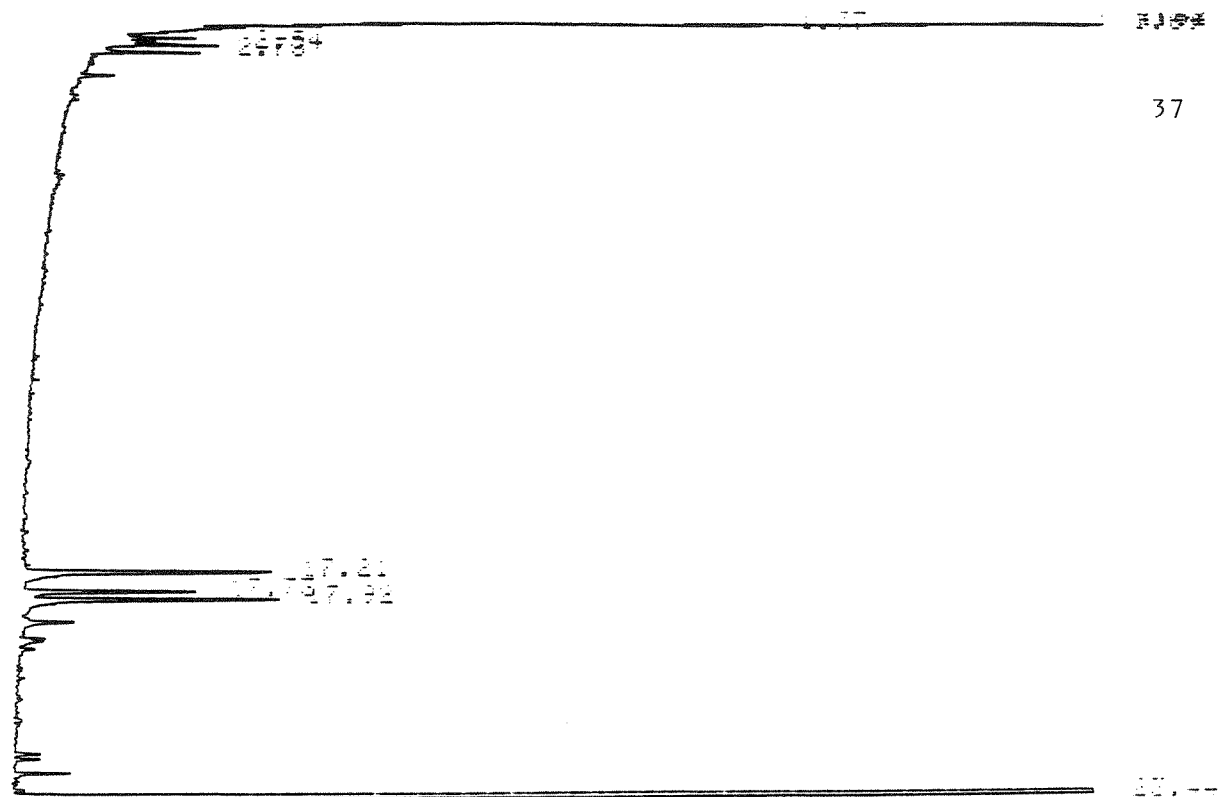
18.71

RT: INTG + OFF

Neste Oxo - Stenungsund
900618 - 102 Bao
For TLC

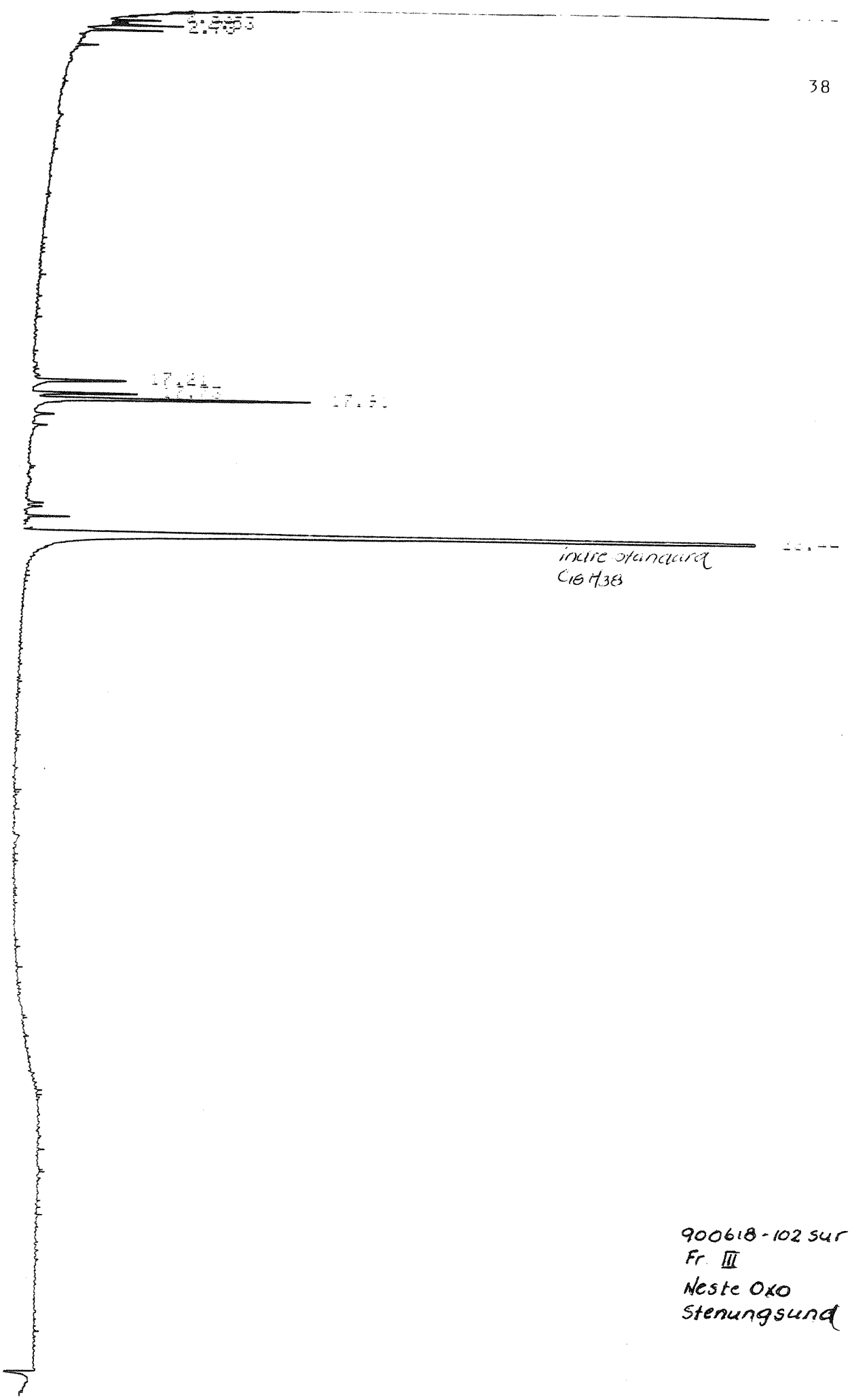
indre standard
C18738

900618-182 sur
Fr. I
Neste Oxo
Stenungsund



inarc standard
C18H30

900618-102 sur
Fr II
Neste OKO
Stenungsund

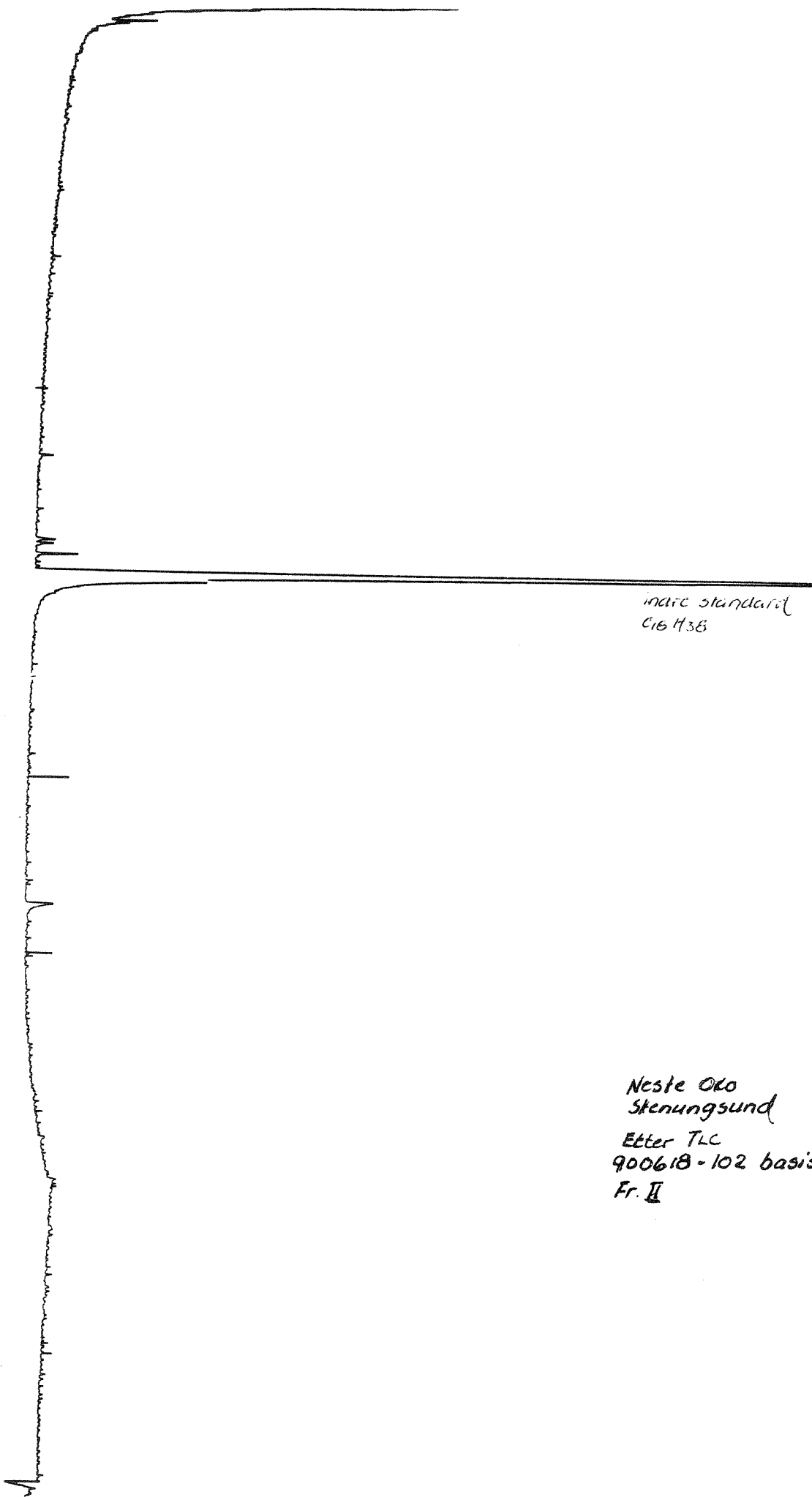


indire standard
C16 H38

900618-102 sur
Fr. III
Neste Oxo
Stenungsund

indire standard
C18 438

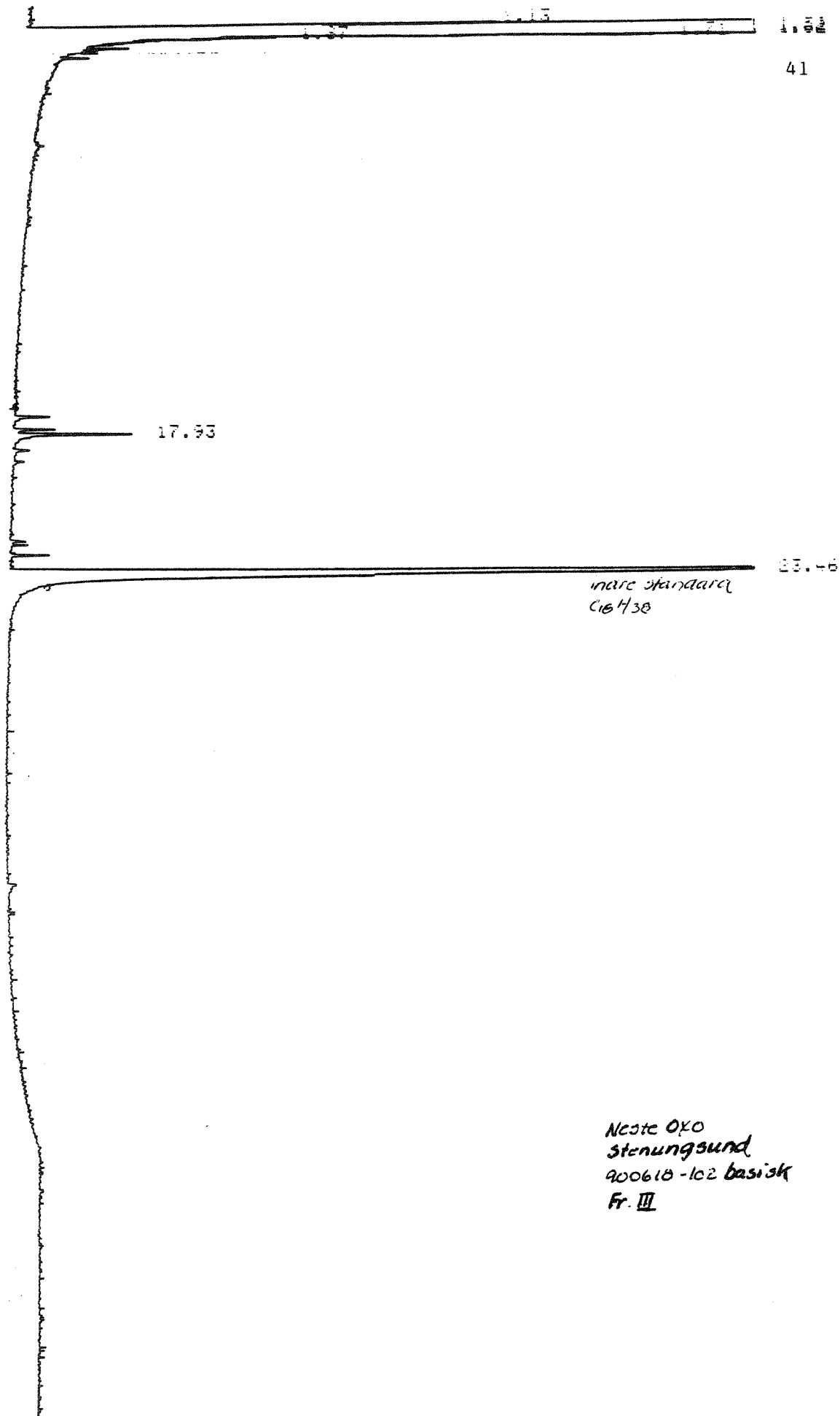
Neste Oxo
sterungsund
900618-102 basisk
Fr. I
Ettler TLC



inarc standard
C16 H38

23.46

Neste Olo
Stenungsund
Etter TLC
900618-102 basisk
Fr. II



Neste OXO
Stenungsund
900610-102 basisk
Fr. III

APPENDIX 4

Toxicitetstest med Aktivt slam

TESTRAPPORT ISO 8192
**HEMNING AV OKSYGENOPPTAK I MIKROORGANISMER I AKTIV-SLAM
(TEST FOR INHIBITION OF OXYGEN CONSUMPTION OF ACTIVATED SLUDGE) METODE A**

TESTSTOFF: Avløpsvann, NESTE OXO Stenungsund

TESTORGANISMER: Aktiv-slam produsert av OECD syntetisk kloakkvann i lab-skala, (Husmann unit).

FORBEHANDLING: Slammet ble sentrifugert og resuspendert i isotonisk saltvann. Behandlingen ble utført 2 ganger og suspensjonen ble kontinuerlig luftet under gjennomføringen av testingen.

TESTDATO: 15.06. 1990.

BETINGELSER FOR TESTPRØVER:

Testkonsentrasjoner: 1. serie, 10, 18, 32, 56 og 90% avløpsvann.
2. serie,

Slamkonsentrasjon i testprøvene; 1. testserie: 70 mg STS/L
2. testserie:

pH i testprøvene: 7,4

Testtemperatur: $20 \pm 2^{\circ} \text{C}$

Abiotisk oksygenforbruk i fysisk-kjemisk kontroll $< 0,1 \text{ mg/L}$

REFERANSESTOFF: 3,5-diklorfenol: EC_{50} -verdi på testslammet: 11,0 mg/L

RESULTATER:

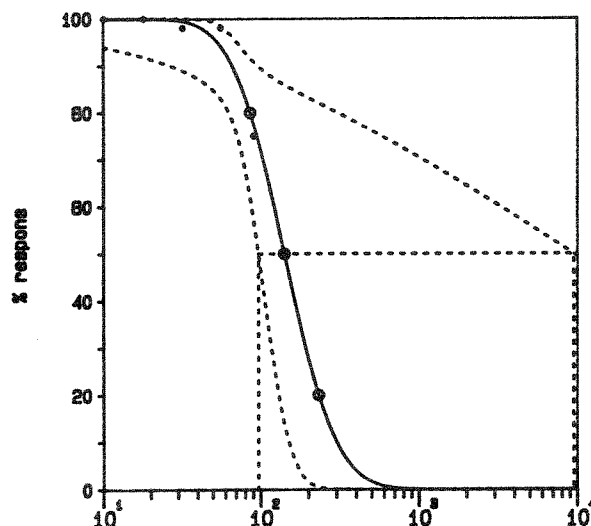
EC_{50}	95% konfidensintervall	EC_{20}	EC_{80}
Ikke hemn.		85 %	

PROBIT

NESTE-Sten

Kommentarer:

Det ble kun påvist redusert biologisk aktivitet (respirasjon) ved 90 % avløpsvann. Probit dose-respons diagram (ugyldig) er opptegnet.



REFERANSE: 1. ISO 8192 Water Quality - Test for Inhibition of oxygen consumption of activated sludge. Method A. 2. OECD guideline for testing of chemicals, Method 209 Activated Sludge, Respiration Inhibition Test. Dansk Standard DS 297.

APPENDIX 5

Toxicitetstester med Microtox

MICROTOX, STANDARD METODE

Testen er utført etter standardmetoden (Microtox TM System Operating manual Beckman 1982.)

Microtox-apparatet ble startet 2 timer før forsøk ble satt i gang for at temperaturen i inkubasjonskamrene skulle stabiliseres. Temperaturen i bakterie-oppbevaringskammeret ble justert til 3°C og i de andre kamrene til 15°C.

De frysetørrede bakteriene ble suspendert i 1 ml. destillert, dejonisert vann og plassert i bakterieoppbevaringskammeret.

Før en normal toksitetstesting settes i gang, må det kjøres en "screening-test for nye prøver, for å finne ut hvilke konsentrasjoner som skal velges for å komme inn på kurven hvor den ønskete EC-verdien kan avleses.

Ved en standard toksisitetstesting ble 15 kuvetter plassert i inkubasjonskamrene. Til 10 av disse (reaksjonskuvetter) ble 0,5 ml. 2% NaCl-løsning pipettert. I fire av de resterende fem kuvetter ble det gjort en fortyningsserie av testprøven, basert på resultatene fra forforsøket. Den siste kuvetten var beregnet for blindprøve, og denne ble tilsatt 1ml. 2% NaCl-løsning.

Til de 10 reaksjonskuvettene ble 10 µl bakteriesuspensjon tilsatt, og etter 10 min. akklimatisering ble den initiale luminescensen (I_0) målt i de respektive kuvetter. Deretter ble det med jevne tidsintervaller tilsatt 0,5 ml. av de respektive prøvekonsentrasjoner i reaksjonskuvettene. Luminescensen I_t ble målt etter 5 og 15 min. eksponeringstid. Det ble målt på to paralleller av hver testkonsentrasjon.

Som kontrollsubstans for bakteriene ble benyttet $ZnSO_4 \cdot 7H_2O$

Før måling ble pH justert til ca. 6,8-7,2 i prøven.

Data av resultatene ble beregnet etter Microtox manual okt.89 "How to run the microtox calculation program on an IBM PC-computer."

UTREGNING AV EC-VERDIEN

Luminescensen $I^0 \times I_t$ til hver reaksjonskuvette ble nedtegnet, og ut fra disse data kan EC-verdien regnes. Bakteriesuspensjonens lysproduksjon minsker gradvis etter overføring til reaksjonskuvettene. For å korrigere for denne minskningen, som skyldes forltyningseffekt ved prøvetilsetting, regnes det ut en reduksjonsfaktor, R_t .

$$R_t = \frac{I_t \text{ (blind)}}{I \text{ (blind)}}$$

Minskningen i luminescensen anses å være et mål på prøvens giftighet overfor bakteriene ved de ulike konsentrasjoner. Denne responsen, Γ_t , kan regnes ut etter følgende formel:

$$\Gamma_t = \frac{R_t (I_0 - I_t)}{I_t}$$

Ved beregning av EC-verdien plottes testkonsentrasjonen mot Γ -verdien i et log-log diagram. Ut fra denne kurven bestemmes EC_{50} -verdien ved å avlese konsentrasjonen som tilsvarer $\Gamma = 1$. Ved rød- eller brunfargede løsninger må det korrigeres for hvor mye fargen nedsetter luminescensen. Til dette formål er det laget en spesialkuvette som består av et tynt rør omgitt av en kappe. Røret er beregnet for bakteriesuspensjon, og i kappen fylles den fargede løsningen. Ved denne testen må det utvises nøyaktighet, så ikke bakteriesuspensjonen blir kontaminert med prøveløsningen. Spesialkuvetten plasseres i tårnet og bakteriesuspensjonen tilsettes bakterierøret, hvoretter I_0 avleses. Så fylles kappen som omgir bakterierøret opp med den fargede prøven og I avleses. Ut fra disse verdiene beregnes adsorpsjonen A_f , som skyldes fargen A_f :

$$A_f = 3.1 \ln \frac{I_0}{I}$$

MICROTOX, 100%-SCREENING METODE

Metoden er beskrevet i Microtox Applicatin Note M-111. Microtox Corp. 1987.

Metoden ble benyttet i de tilfeller der prøven var spesielt lav-toksisk slik at en dose-respons kurve ikke kunne oppnås. Dette betyr at målinger utført på denne måten bare angir % lysreduksjon i en uforynnnet prøve, ikke EC50-verdien.

I motsetning til Standard-metoden, som går ut på å eksponere de luminescerende bakterier for forskjellige prøvekonsentrasjoner (høyeste prøvekonsentrasjon 45 %) omfatter 100% screeningtesten kun måling av prøven i en konsentrasjon (99% saltjustert prøve)
Målingene ble utført i 3 paralleller av prøven, samtidig med 3 paralleller av blindprøven av 2% natriumkloridløsning. Eksponeringstid for bakteriene med prøveløsning ble holdt til 5 min. eventuelt 15 min.
Prøvene ble justert til pH ca.6.8-7,2 før måling.
Som kontrollsubstans for bakteriene ble benyttet $ZnSO_4 \cdot 7H_2O$

Følgende formel ble benyttet ved utregningen:

Lysreduksjon i %:

$$A = \frac{\bar{X}_{\text{blind}} - \bar{X}_{\text{prøve}}}{\bar{X}_{\text{blind}}}$$

100% - lysning

DATO	9/7-90
FØLSOMHET	x1
BATCH	910
KJØRTAV	340

900618-102

PRØVE	Neste Oko stengungsund ukeprøve
UL	SL
pH i UL	_____ korr. till _____ med _____

$\sum J_{05}$	$\sum J_5$
88.0	55.7
92.5	60.9
87.7	61
\bar{X}_{05}	\bar{X}_5
89.4	59.2
T_{05}	A_5
	33.7%

$\sum J_{015}$	$\sum J_{15}$
79.8	51.5
83.3	57
80	60
\bar{X}_{015}	\bar{X}_{15}
81	56.1
T_{15}	A_{15}
	30.7%

Beregninger:

$$T' = \frac{\bar{X}'_{BLANK} - 1}{\bar{X}'}$$

Lysminstning i %

$$A = \frac{\bar{X}'_{BLANK} - \bar{X}'}{\bar{X}'_{BLANK}} \times 100$$

100% - lysning

DATO	16/8-90
FØLSOMHET	x1
BATCH	910
KJØRTAV	340

PRØVE	Neste OKO stengningsund
UL	SL
pH i UL	_____ korr. tLL _____
med	_____

\bar{J}_{05}	\bar{J}_5
81.4	54
78.8	54.8
74.8	55
\bar{X}_{05}	\bar{X}_5
78.3	54.6
T_{5}	A_5
	30.3%

\bar{J}_{015}	\bar{J}_{15}
\bar{X}_{015}	\bar{X}_{15}
T_{15}	A_{15}

Beregninger:

$$T' = \frac{\bar{X}'_{BLANK} - \bar{X}}{\bar{X}}$$

Lysminskning i %

$$A = \frac{\bar{X}'_{BLANK} - \bar{X}}{\bar{X}'_{BLANK}} \times 100$$

APPENDIX 6

Toxicitetstest med *Selenastrum capricornutum*

NORSK INSTITUTT FOR VANNFORSKNING

TOKSISITETSTEST MED ALGER

ISO/DIS 8692 Water quality - Algal growth inhibition test.

Prøve: Avløpsvann fra Neste Oxo, Stenungsund, veckoblandprov
6-12/6 1990

Organisme: Selenastrum capricornutum NIVA CHL 1, dyrket i vekstmedium
10% Z8 (Staub 1961).

Test Start dato: 18/6-90 Varighet: 72 t
dok: Testede konsentrasjoner: 1, 1.8, 3.2, 5.6, 10, 18, 32 %

Inku- 50 ml kulturer i 100 ml rundkolber. Inkubert på gyngbord
bering: Lys: 70 $\mu\text{E}/\text{m}^2/\text{s}$, kontinuerlig fra "dagslys"-lysstoffrør
Temperatur: 20 °C
pH i kontroll ved start: 7.2, pH ved slutt: 8.6
Måling av celletetthet: Partikkeltelling med
Coulter Multisizer

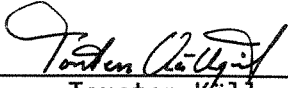
Resultat: Tabell 1 viser celletetthet ved hvert målepunkt, beregnet areal under vekstkurven og veksthastighet i hver kolbe. Middelerverdier for hver konsentrasjon og for kontrollene er listet nederst i tabellen. Vekstkurvene for hver konsentrasjon er vist i figur 1. Konsentrasjon/respons-kurver for veksthastighet og areal under vekstkurve er vist i henholdsvis fig. 2 og 3.

	Veksthastighet	Areal under vekstkurve
EC ₅₀ :	15%	6%
95 % koinf. lim.	13 - 18%	5.2 - 7.0%
NOEC	1.8%	1.8%

EC₅₀ (Konsentrasjon som gir 50% effekt på veksthastighet eller areal under vekstkurve) er bestemt ved lineær regresjon av probit-transformert respons mot logaritmen for konsentrasjon. NOEC (No Effect Concentration) = høyeste testede konsentrasjon uten signifikant inhibering. (t-test).

Ref: Staub (1961): Ernährungsphysiologische-autökologische Untersuchungen an der planktischen Blaualge *Oscillatoria rubescens* D.C. Schweiz. Z. Hydrol. 23: 82-198.

Testansvarig:


Torsten Källqvist

TEST:>> ISO/DIS 8692

Dato>>> 18.6.90

TESTSTOFF>>>> Neste Oxo, Stenungsund

TESTALGE>>>> *Selenastrum capricornutum*

Medium> ISO

INOKULUM>>>>

10 mill. celler/l

	Timer:	Dag 1	Dag 2	Dag 3	Areal	Areal %	V. hast.	V. hast %
		24 mill/l	48 mill/l	72 mill./l				
Kons. 1	32	31	44	37	1644	5	0.44	25
%		29	42	34	1512	4	0.41	23
		28	38	36	1416	4	0.43	24
Kons. 2	18	44	65	115	3396	10	0.81	46
%		41	61	69	2676	8	0.64	36
		44	62	71	2796	8	0.65	37
Kons. 3	10	55	127	228	6504	19	1.04	59
%		53	93	124	4392	13	0.84	47
		61	124	246	6792	19	1.07	60
Kons. 4	5.6	54	268	1440	24408	70	1.66	93
%		52	274	1510	25344	73	1.67	94
		59	264	1360	23472	67	1.64	92
Kons. 5	3.2	55	280	1460	24960	72	1.66	94
%		53	278	1480	25104	72	1.67	94
		65	336	1680	29184	84	1.71	96
Kons. 6	1.8	58	316	1960	31896	91	1.76	99
%		63	342	1830	31080	89	1.74	98
		63	374	2100	35088	101	1.78	100
Kons. 7	1	60	350	1800	30840	88	1.73	98
%		64	394	1960	33912	97	1.76	99
		66	418	2310	38736	111	1.81	102
Kontroll		63	416	2110	36216	104	1.78	101
		59	386	2090	35160	101	1.78	100
		54	376	2450	39120	112	1.83	103
		66	388	1930	33456	96	1.75	99
		62	364	1850	31824	91	1.74	98
		62	394	1940	33624	96	1.76	99

MIDDELVERDIET

32.00 Mv.	29.33	41.33	35.67	1524.00	4.37	0.42	23.87
St. d.	1.25	2.49	1.25	93.47	0.27	0.01	0.66
18.00 Mv.	43.00	62.67	85.00	2956.00	8.47	0.70	39.65
St. d.	1.41	1.70	21.23	314.96	0.90	0.08	4.40
10.00 Mv.	56.33	114.67	199.33	5896.00	16.89	0.98	55.39
St. d.	3.40	15.37	53.77	1069.97	3.07	0.10	5.76
5.60 Mv.	55.00	268.67	1436.67	24408.00	69.94	1.66	93.28
St. d.	2.94	4.11	61.28	764.24	2.19	0.01	0.80
3.20 Mv.	57.67	298.00	1540.00	26416.00	75.69	1.68	94.56
St. d.	5.25	26.88	99.33	1958.15	5.61	0.02	1.19
1.80 Mv.	61.33	344.00	1963.33	32688.00	93.66	1.76	99.13
St. d.	2.36	23.72	110.25	1729.44	4.96	0.02	1.06
1.00 Mv.	63.33	387.33	2023.33	34496.00	98.84	1.77	99.63
St. d.	2.49	28.16	212.97	3249.87	9.31	0.03	1.94
Kontroll Mv.	61.00	387.33	2061.67	34900.00	100.00	1.77	100.00
St. d.	3.74	16.03	196.16	2337.48	6.70	0.03	1.72

Neste Oxo, Stenungsund Senastrum, vekstkurver

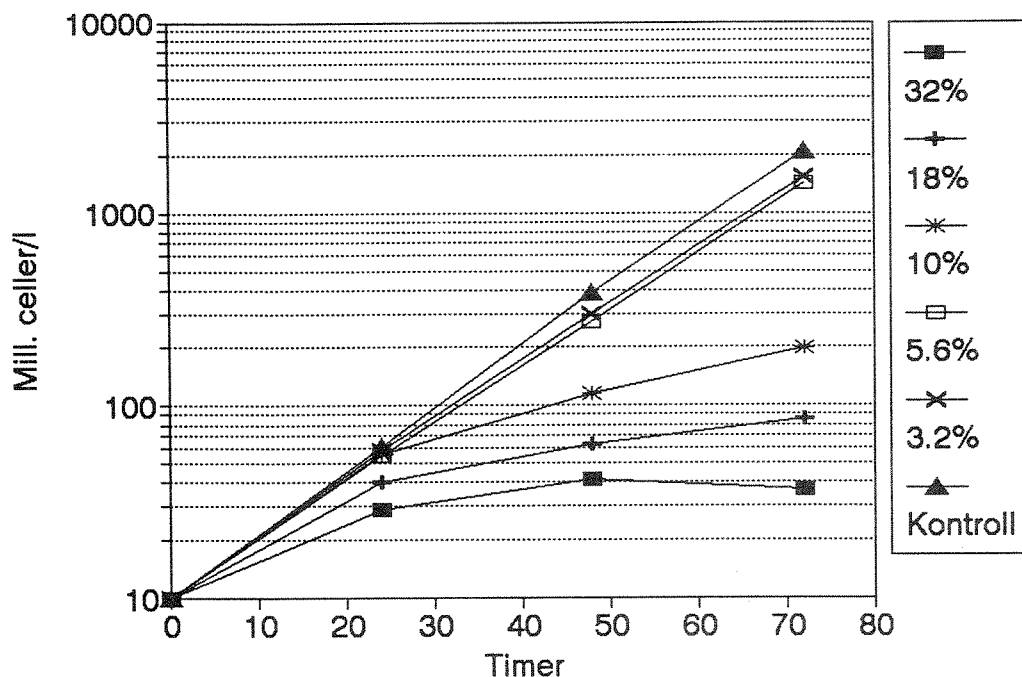


Fig. 1. Vekstkurver for *Senastrum capricornutum* i ulike konsentrasjoner av avløpsvann.

Neste Oxo, Stenungsund *Senastrum*, veksthastighet

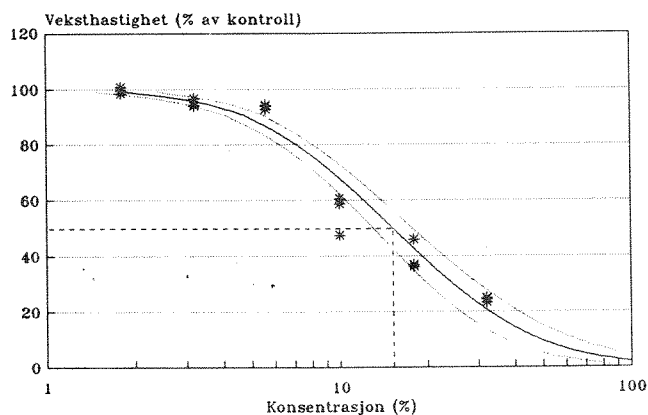


Fig. 2. Effekt av avløpsvann på veksthastigheten hos *Senastrum capricornutum*

Neste Oxo, Stenungsund *Senastrum*, areal under vekstkurve

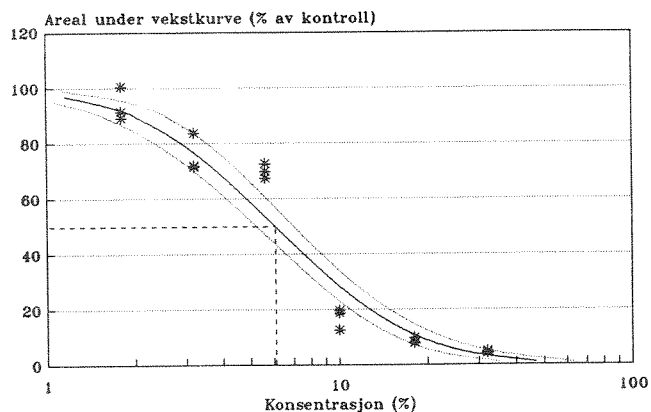


Fig. 3. Effekt av avløpsvann på areal under vekstkurve for *S. capricornutum*

NORSK INSTITUTT FOR VANNFORSKNING

TOKSISITETSTEST MED ALGER

ISO/DIS 8692 Water quality - Algal growth inhibition test.

Prøve: Avløpsvann fra Neste Oxo, Stenungsund, veckoblandprov
6-12/6 1990 etter nedbrytning

Organisme: Selenastrum capricornutum NIVA CHL 1, dyrket i vekstmedium
10% Z8 (Staub 1961).

Test Start dato: 18/6-90 Varighet: 72 tim
dok: Testede konsentrasjoner: 8.2, 15, 26, 46 og 74 %.
(konsentrasjonene korrigert for fortykning ved nedbrytbar-
hetstesten).

Inku- 50 ml kulturer i 100 ml rundkolber. Inkubert på gyngebord
bering: Lys: 70 μ E/m²/s, kontinuerlig fra "dagslys"-lysstoffrør
Temperatur: 20 °C
pH i kontroll ved start: 7.2, pH ved slutt: 8.5
Måling av celletetthet: Partikkeltelling med
Coulter Multisizer

Resultat: Tabell 1 viser celletetthet ved hvert målepunkt, beregnet areal under vekstkurven og veksthastighet i hver kolbe. Middelerverdier for hver konsentrasjon og for kontrollene er listet nederst i tabellen. Vekstkurvene for hver konsentrasjon er vist i figur 1. Konsentrasjon/respons-kurver for veksthastighet og areal under vekstkurve er vist i henholdsvis fig. 2 og 3.

	Veksthastighet	Areal under vekstkurve
EC ₅₀ :	21%	6.6%
95 % koinf. lim.	16 - 27%	4.9 - 9.0%
NOEC	<8.2%	<8.2%

EC₅₀ (Konsentrasjon som gir 50% effekt på veksthastighet eller areal under vekstkurve) er bestemt ved lineær regresjon av probit-transformert respons mot logaritmen for konsentrasjon. NOEC (No Effect Concentration)= høyeste testede konsentrasjon uten signifikant inhibering. (t-test).

Ref: Staub (1961): Ernährungsphysiologische-autökologische Untersuchungen an der planktischen Blaualge *Oscillatoria rubescens* D.C. Schweiz. Z. Hydrol. 23: 82-198.

Testansvarig: _____

Torsten Källqvist

TEST:>> ISO/DIS 8692

Dato>>> 6.8.90

TESTSTOFF>>>> Neste, Stenungsund etter nedbrytning, (korrigerede konsentrasjoner)

TESTALGE>>>>> Selenastrum capricornutum Medium> ISO

INOKULUM>>>>> 12 mill. celler/l

	Timer:	Dag 1 24 mill/l	Dag 2 48 mill/l	Dag 3 72 mill./l	Areal	Areal %	V. hast.	V. hast %
Kons 1	74	14	12	11	36	0	-0.03	-2
%		13	8	9	-108	0	-0.10	-6
		12	10	9	-84	0	-0.10	-6
Kons 2	46	13	18	39	492	2	0.39	25
%		13	18	32	408	2	0.33	21
		13	25	50	792	3	0.48	30
Kons 3	26	29	67	153	3420	13	0.85	54
%		30	67	78	2544	10	0.62	40
		28	77	180	3960	15	0.90	58
Kons 4	15	45	76	94	3312	13	0.69	44
%		45	78	90	3312	13	0.67	43
		44	84	182	4536	18	0.91	58
Kons 5	8.2	57	130	425	8868	34	1.19	76
%		56	122	464	9120	35	1.22	78
		58	176	810	14616	57	1.40	90
Kons. 6								
Kons. 7								
Kontroll		72	421	1000	23112	89	1.47	94
		73	409	1280	26208	101	1.56	100
		72	425	1110	24528	95	1.51	97
		64	347	1200	23544	91	1.54	98
		65	320	1550	27120	105	1.62	104
		69	335	1800	30576	118	1.67	107

MIDDELVERDIER

%: 74	Mv:	13.00	10.00	9.67	-52.00	-0.20	-0.07	-4.71
	St. d.	0.82	1.63	0.94	62.99	0.24	0.03	2.02
%: 46	Mv.	13.00	20.33	40.33	564.00	2.18	0.40	25.53
	St. d.	0.00	3.30	7.41	164.83	0.64	0.06	3.90
%: 26	Mv.	29.00	70.33	137.00	3308.00	12.80	0.79	50.72
	St. d.	0.82	4.71	43.15	583.48	2.26	0.12	7.73
%: 15	Mv.	44.67	79.33	122.00	3720.00	14.39	0.75	48.35
	St. d.	0.47	3.40	42.46	577.00	2.23	0.11	6.88
%: 8.2	Mv.	57.00	142.67	566.33	10868.00	42.05	1.27	81.39
	St. d.	0.82	23.80	173.03	2652.23	10.26	0.10	6.10
	Mv.							
	St. d.							
	Mv.							
	St. d.							
Kontroll	Mv.	69.17	376.17	1323.33	25848.00	100.00	1.56	100.00
	St. d.	3.53	43.15	272.56	2537.65	9.82	0.07	4.25

Neste Oxo Stenungsund, etter nedbrytn.
Senastrum, vekstkurver

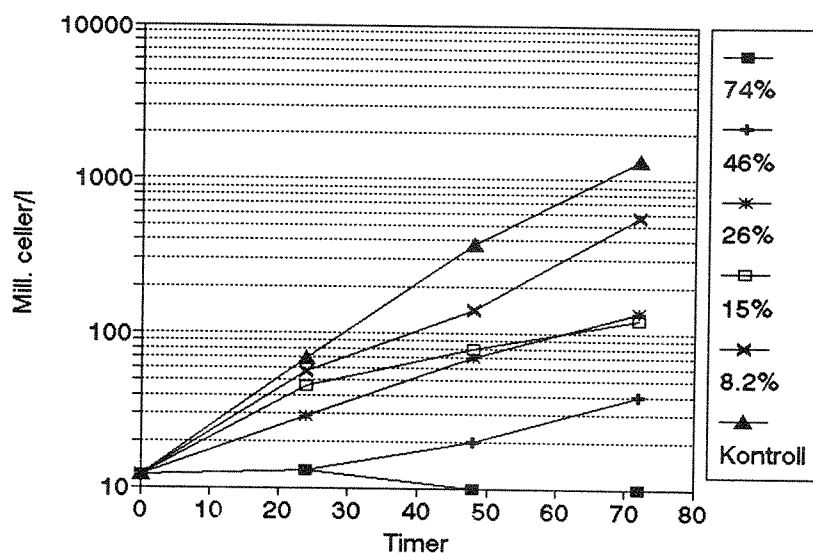


Fig. 1. Vekstkurver for *Selenastrum capricornutum* i ulike konsentrasjoner av avløpsvann.

Neste Oxo, Stenungsund etter nedbrytning
Senastrum, veksthastighet

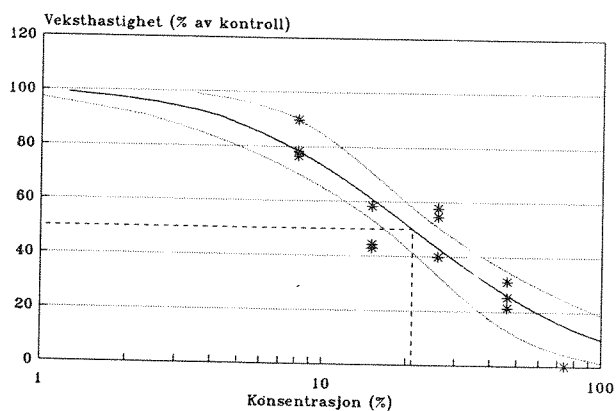


Fig. 2. Effekt av avløpsvann på veksthastigheten hos *Selenastrum capricornutum*

Neste Oxo, Stenungsund etter nedbrytning
Senastrum, areal under vekstkurve

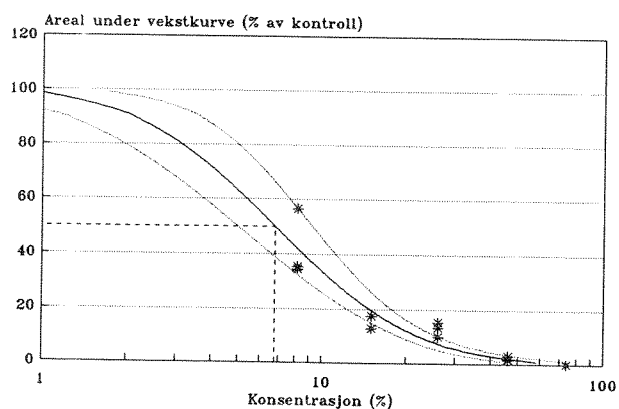


Fig. 3. Effekt av avløpsvann på areal under vekstkurve for *S. capricornutum*

APPENDIX 7

Toxicitetstest med marina alger

Undersökning av algtoxiciteten hos avloppsvatten från Stenungssundsområdet - STORK.

Sten-Åke Wängberg och Sverker Molander, Avdelningen för Fysiologisk Botanik, Göteborgs Universitet

METODER

Tillvägagångssättet följer i stort sett det som gjordes i MUST-utredningen (Wängberg et al, 1984). Några förändringar har gjorts för att anpassa det hela till den standard som utvecklats (Blanck och Björnsäter, 1989). Den viktigaste förändringen är att näringsmediet har ändrats så att odlingen nu skett i ISO-medium (12%) med berikning av silikat (1.15 mg/l) och vitaminer (thiamin 12.5 $\mu\text{g/l}$, biotin 0.125 $\mu\text{g/l}$ och B₁₂ 0.125 $\mu\text{g/l}$). Ljusstyrkan under odlingen var 45 $\mu\text{E m}^{-2}\text{s}^{-1}$ (kontinuerligt ljus). Som saltvatten användes djupvatten från Kristineberg vilket antogs ha en salinitet på 33 ‰. Detta späddes med destillerat vatten till en salinitet på 26 ‰ i näringsmedierna.

Utläggningen på plattorna framgår av figur 1. Av denna framgår att vi för varje koncentration har gjort en salinitetskontroll för att kontrollera att den toxicitet som visade sig inte var beroende av salinitetseffekter. I denna späddes destillerat vatten på samma sätt som avloppsvattnet. Den högsta koncentration som testades var 40% avloppsvatten vilket gav en salinitet på 18.6 ‰ i salinitetskontrollen.

Avläsningen av tillväxt skedde visuellt på ljusbord efter 5 och 12 dagars inkubering. Vid avläsningen noterades om det skett någon synbar växt över huvud taget och om den bildade algbiomassan var lägre än kontrollen. Den lägsta koncentration där ingen tillväxt skett betecknas EC100 medan den högsta koncentration där tillväxten är lika stor som kontrollen betecknas EC0. Vissa avloppsvatten skapade förändringar i sedimentationen och pelletbildning i mikrotiterplattan. Dessa förändringar har inte tagits med i sammanställningen av resultat om det inte var uppenbart att biomassan var mindre än kontrollen.

I tabell 1 ges även geometriska medelvärden samt range för de olika vattnen vid de olika avläsningstillfällena. När tillväxten var densamma i den högsta testade koncentrationen som i kontrollen har EC0-värdet satts till 40% vid beräkningen

av geometriskt medelvärde och då tillväxt skedde även i den högsta koncentrationen sattes EC100-värdet till 80%.

Testade algarter

Följande stammar av alger testades:

CHLOROPHYCEAE

Dunaliella tetriolecta Butcher MBL

PRASINOPHYCEAE

Platymonas subcordiformis (Willie) Hazen CCAP 161/19

Tetraselmis sp. CCAP 66/8

PRYMNESIOPHYCEAE

Emiliana huxleyi (Lohm.) Hay et Moher NIVA-7/82

Hymenomonas carterae (Braarud & Fagerl.) Braarud CCAP 961/8

DINOPHYCEAE

Prorocentrum minimum Schiller NIVA-2/85

RHODOPHYCEAE

Porphyridium cruentum (Ag.) Nägeli UTEX 161

BACILLARIOPHYCEAE

Phaeodactylum tricornutum Bohlin UTEX 642

MBL = Marinbiologiskt Laboratorie, Helsingör

CCAP = The Culture Collection of Algae and Protozoa, Cambridge

NIVA = Norsk Institutt for vannforskning, Oslo

UTEX = The Culture Collection of algae at the University of Texas at Austin.

RESULTAT

En sammanställning av resultaten ges i Tabell 1. Något förvånande visade det sig att åldringen av vatten inte minskade toxiciteten, snarare ökade den i flera fall. För att kontrollera att detta inte var något misstag reproducerades testen med vattnen från Neste och Statoil för två alger (Phaeodactylum och Prorocentrum) vilket gav samma resultat. Prorocentrum visade en dålig tillväxt vilket gör att 5-dagars värden inte var möjliga att avläsa med den teknik som använts. Emiliana uppvisade ibland minskad tillväxt i salinitetskontrollen för den högsta koncentrationen vilket ingen annan alg gjorde.

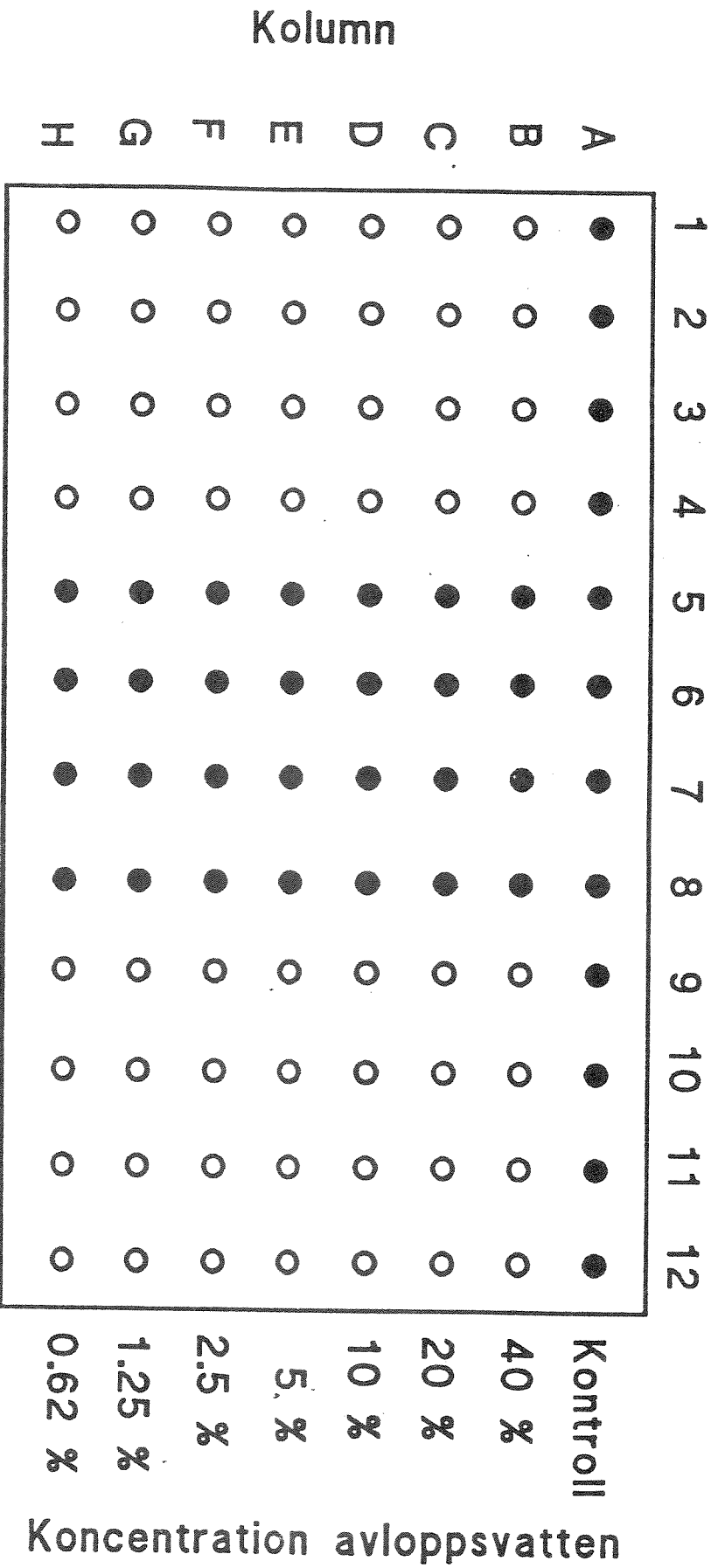
REFERENSER

Blanck H., Björnsäter B. (1989): The algal microtest battery - A manual for routine tests of growth inhibition. KEMI report 3/89.

Wängberg S.-Å., Molander S., Blanck H. (1984) Inverkan av åtta industriella avloppsvatten på tillväxt av arton marina mikroalger. i Granmo Å: Delprojekt Vatten, MUST rapport nr 1. SNV PM 1845.

Figur 1

Rad nummer



Salinitetskontroller

Alg 1

Alg 2

Tabell 1

5-dagars avläsning ECO (%)		
	Neste	* åldrat
	Färskt	
Dunaliella bioculata	5	2.5
Platymonas subcordiformis	20	5
Tetraselmis sp.	5	10
Emiliana huxleyi	2.5	1.25
Prorocentrum minimum	-	-
Porphyridium cruentum	5	2.5
Phaeodactylum tricorutum	5	1.25
Hymenomonas carterae	>	10
geom.medel	7.430	3.365
range	2.5->	1.25-10
5-dagars avläsning EC100		
	Neste	åldrat
	Färskt	
Dunaliella bioculata	>	>
Platymonas subcordiformis	>	>
Tetraselmis sp.	>	>
Emiliana huxleyi	5	20
Prorocentrum minimum	-	-
Porphyridium cruentum	40	20
Phaeodactylum tricorutum	>	>
Hymenomonas carterae	>	>
geom.medel	48.761	53.836
range	5->	20->
12-dagars avläsning ECO		
	Neste	åldrat
	Färskt	
Dunaliella bioculata	>	40
Platymonas subcordiformis	>	20
Tetraselmis sp.	>	>
Emiliana huxleyi	2.5	2.5
Prorocentrum minimum	-	-
Porphyridium cruentum	>	5
Phaeodactylum tricorutum	>	20
Hymenomonas carterae	>	20
geom.medel	26.918	14.860
range	2.5->	2.5->
12-dagars avläsning EC100		
	Neste	åldrat
	Färskt	
Dunaliella bioculata	>	>
Platymonas subcordiformis	>	>
Tetraselmis sp.	>	>
Emiliana huxleyi	20	>
Prorocentrum minimum	-	>
Porphyridium cruentum	>	>
Phaeodactylum tricorutum	>	>
Hymenomonas carterae	>	>
geom.medel	65.627	80.000
range	20->	>

* OBS. Koncentrationerna av åldrat vatten är inte korrigerade för den utspädning som gjordes vid nedbrytbarhetstesten (82:100). De angivna koncentrationerna skall alltså multipliceras med 0.85 för att representera det ursprungliga avloppsvattnet.

APPENDIX 8

Akut toxicitet, *Nitocra spinipes*

TESTRAPPORT**TOKSISITETSTEST MED NITOCRA SPINIPES**

Metode: Forslag til Dansk Standard Akut økotoksikologisk undersøgelse med krebsdyret *Nitocra spinipes*. Statisk metode. DS F 88/225.

TESTSTOFF: NESTE-OXO Stenungsund. Avløpsvann

TESTORGANISMENS OPPRINNELSE: Stamme fra VKI Danmark

FØRINGSBETINGELSER: Dyrket i henhold til forslag til Dansk Standard

TESTBETINGELSER: Sjøvann fra 40 m, utenfor Solbergstrand. Fortynnet med testprøve, eller destillert vann til 1,5 % og justert til pH 8.0.

Antall enheter: 5 pr. konsentrasjon. Antall individ pr. kons.: 5-7.

Testtemperatur: 20 ± 0,5 °C pH: 7,9 - 8,0 Oksygen metn.% = > 95

Testkonsentrasjoner: 5.6, 10, 18, 32 og 56 %

Testperiode: 18.06 -22.06.1990

Kontrollstoff: Kaliumdikromat, 96 t $EC_{50} = 31,3$ mg/L

RESULTATER:

% dødlighet (immobilitet) i kontrollene: 96t = 0

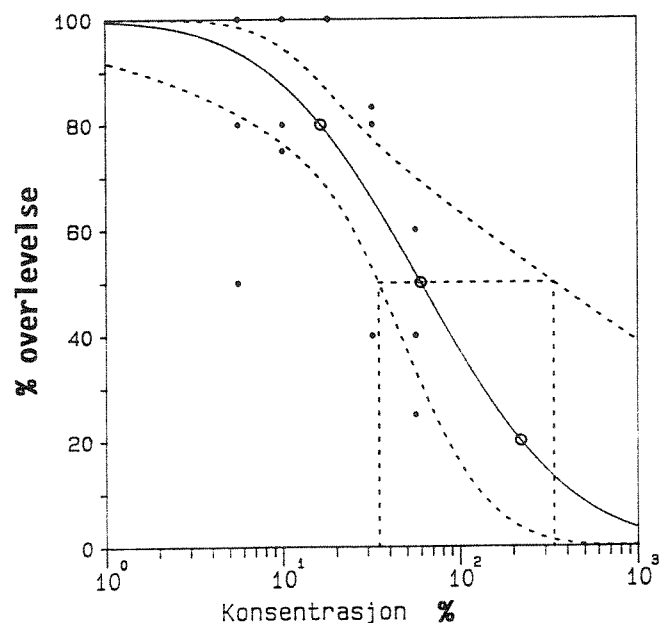
96 timers eksponering: LC-verdier med 95 % konfidensintervall

Verdier	Avl.vann %	95 % konfidensintervall
LC ₅₀	60	35 -
LC ₂₀	16	
LC ₈₀	-	

Kommentarer:

På grunn av lav giftighet er det utført få test-konsentrasjoner med tilstrekkelig dødlighet til å gi en probit-beregning med pålitelig konfidensintervall.

Dose-respons diagram: PROBIT



TESTRAPPORT**TOKSISITETSTEST MED NITOCRA SPINIPES**

Metode: Forslag til Dansk Standard Akut Økotoksikologisk undersøgelse med krebsdyret *Nitocra spinipes*. Statisk metode. DS F 88/225.

TESTSTOFF:NESTE-OXO Stenungsund. Avløpsvann. Etter bionedbrytning BOD₂₈

TESTORGANISMENS OPPRINNELSE: Stamme fra VKI Danmark

FØRINGSBETINGELSER:Dyrket i henhold til forslag til Dansk Standard

TESTBETINGELSER: Sjøvann fra 40 m, utenfor Solbergstrand. Fortynnet med testprøve, eller destillert vann til 1,5 % og justert til pH 8.0.

Antall enheter: 5 pr. konsentrasjon. Antall individ pr. kons.: 5-7.

Testtemperatur: 20 ± 0,5 °C pH: 8,0 - 8,0 Oksygen metn.% = > 95

Testkonsentrasjoner av testprøve: 8.2, 14.8, 26.2, 28.7, 41 og 57.4 %

Testperiode: 02.08 -06.08. og 09.08.1990

Kontrollstoff: Kaliumdikromat, 96 t EC₅₀ = 29 og 24 mg/L

RESULTATER:

% dødlighet (immobilitet) i kontrollene: 96t = 0

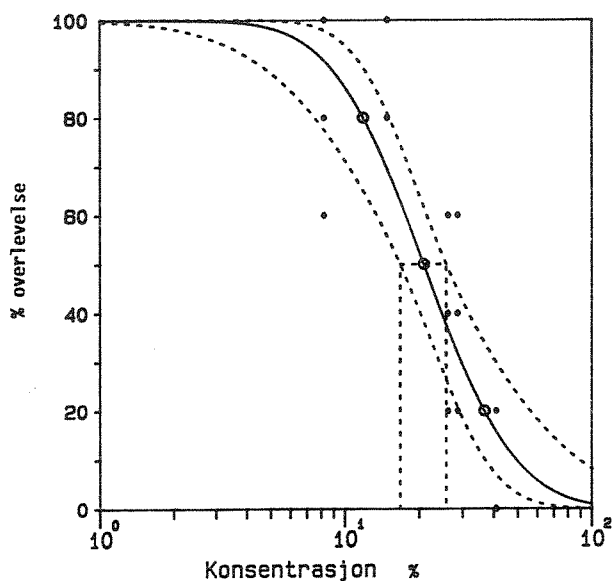
96 timers eksponering: LC-verdier med 95 % konfidensintervall

Verdier Avl.vann %	95 % konfidens- intervall
LC ₅₀ 21	17 - 26
LC ₂₀ 12	
LC ₈₀ 37	

Kommentarer:

Normale dose-respons kurver.
Økt giftighet sammenlignet med før bionedbrytning.

Dose-respons diagram: PROBIT



APPENDIX 9

Reproduktionstest, *Nitocra spinipes*

TESTRAPPORT**REPRODUKSJONSTEST MED NITOCRA SPINIPES**

Metode: Forslag til Dansk Standard Økotoksikologisk undersøgelse med krebsdyret *Nitocra spinipes*. Reproduksjons-metode.

TESTSTOFF: NESTE-OXO Stenungsund. Avløpsvann

TESTORGANISMENS OPPRINNELSE: Stamme fra VKI Danmark

FØRINGSBETINGELSER: Dyrket etter metodeforslag fra WKI, Danmark.
Ekstra føring etter 7 døgn med ca 1 mg tørket fiskefôr.

TESTBETINGELSER: Sjøvann fra 40 m, utenfor Solbergstrand. Fortynnet med testprøve, eller destillert vann til 1,5 % og justert til pH 8.0.

Antall enheter: 4 pr. konsentrasjon. Antall individ pr. kons.: 20.

Testtemperatur: 20 ± 0,5 °C pH: 7,9 - 8,0 Oksygen metn.% = > 90

Testkonsentrasjoner: 5.6, 10, 20 %

Testperiode: 05.07 -19.07. og 18.09. - 1.10.1990 (20 % testkons.)

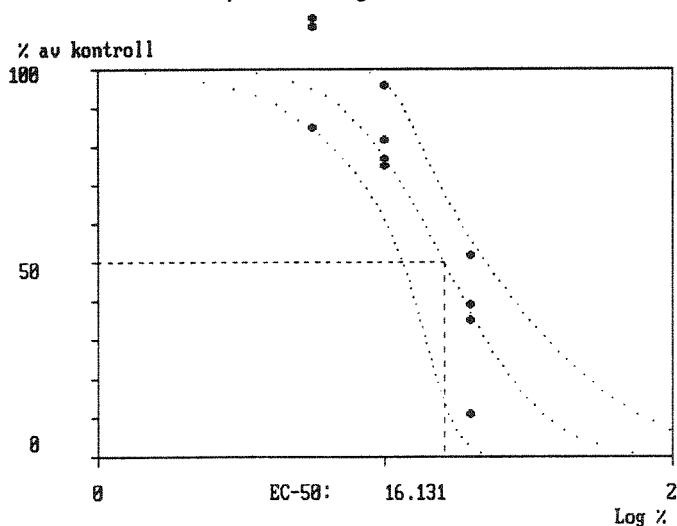
RESULTATER:

Kons.	Antall Glass	Foreldre		Antall avkom			Copepod. Nauplier	
		Individ	Lev. 14 d	Totalt	Snitt/gl	SD	snitt/gl	snitt
Kontroll	4	5	20	463	116	20	58	58
kontroll *	4	5	20	901	225	34	112	113
5.6	4	5	15	515	129	20	64	65
10	4	5	12	382	95	9	46	49
20 *	4	5	17	309	77	33	20	57

EC₅₀-verdi= 16 %. 95 % konf. int. 11.5 - 23 % avløpsvann

Kommentarer:

20 % testprøve ble utført adskilt fra de øvrige. Produksjonen av avkom var vesentlig høyere enn ved første test. Dette kan forklares ved forskjell i livssyklus hos foreldregenerasjonen. Utviklingen fra nauplier til copepoditter er tydelig påvirket ved 20 %.

Dose-respons diagram:**Referanse:**

Renberg, L. et al. 1980 Chemosphere 9: 143-150.
Chlorinated guaiacols and catechols bioaccumulation potential in bleaks (*Alburnus alburnus*, Pisces) and reproductive and toxic effects on the harpacticoid *Nitocra spinipes* (Crustacea).

TESTRAPPORT**REPRODUKSJONSTEST MED NITOCRA SPINIPES**

Metode: Forslag til Dansk Standard Økotoksikologisk undersøgelse med krebsdyret *Nitocra spinipes*. Reproduksjons-metode.

TESTSTOFF: NESTE-OXO Stenungsund. Avløpsvann Etter nedbrytning.

TESTORGANISMENS OPPRINNELSE: Stamme fra VKI Danmark

FØRINGSBETINGELSER: Dyrket etter metodeforslag fra VKI, Danmark.
Ekstra føring etter 7 døgn med ca 1 mg tørket fiskefôr.

TESTBETINGELSER: Testprøve etter bionedbrytning er tilsatt salter iflg. SS 028189, tilsvarende $\approx 1,5$ % salinitet. Justert pH til pH 8.0.

Antall enheter: 4 pr. konsentrasjon. Antall individ pr. kons.: 20.

Testtemperatur: 20 \pm 0,5 °C pH: 7,9 - 8,0 Oksygen metn.% = > 90

Testkonsentrasjoner: 8.2, 14.8, 26.2, 46 %

Testperiode: 18.09. - 1.10.1990

RESULTATER:

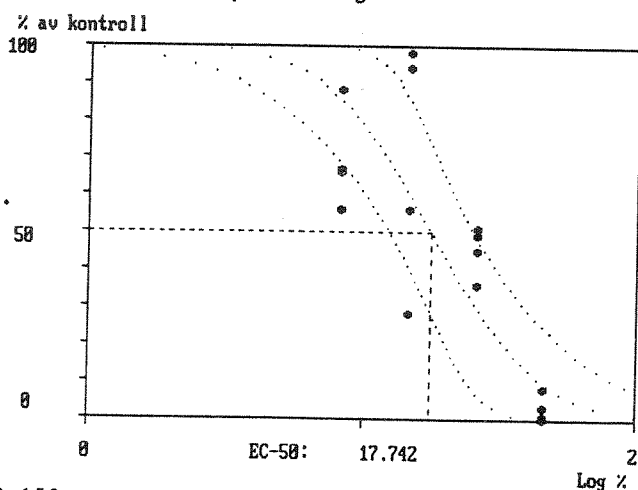
Kons.	Antall Glass	Foreldre		Antall avkom			Copepod. Nauplier	
		Individ	Lev. 14 d	Totalt	Snitt/gl	SD	snitt/gl	snitt
kontroll	4	5	20	901	225	34	112	113
8.2 %	4	5	20	624	156	26	72	84
14.8 %	4	5	20	620	155	65	46	49
26.2 %	4	5	20	407	102	13	39	63
46 %	4	5	19	25	6	6	0	6

EC₅₀-verdi= 17 % 95 % konf. int. 12 - 25 % avløpsvann.

Kommentarer:

Spesielt stort standard avvik (SD) for 14.8 % kons. p.g.a. lite avkom fra individ i to testglass.

Ved 26 % var utviklingen av nauplier til copepoditter betydelig påvirket, og ved 46 % testkonsentrasjon ble det ikke funnet copepoder i det hele tatt. Ved høyeste testkonsentrasjonen ble det født svært få nauplier.

Dose-respons diagram:**Referanse:**

Renberg, L. et al. 1980 Chemosphere 9: 143-150.
Chlorinated guaiacols and catechols bioaccumulation potential in bleaks (*Alburnus alburnus*, Pisces) and reproductive and toxic effects on the harpacticoid *Nitocra spinipes* (Crustacea).

APPENDIX 10

Akut toxicitet, Storspigg

UNDERSÖKNING AV AKUT TOXICITET HOS AVLOPPSVATTEN FRÅN BEROL
NOBEL AB OCH NESTE OXO AB, STENUNGSUND FÖR EN MARIN FISKART

EKOTOXIKOLOGISKA GRUPPEN
KRISTINEBERGS MARINBIOLOGISKA STATION
450 34 FISKEBÄCKSKIL

SAMMANFATTNING

Avloppsvatten från Berol Nobel AB, och Neste Oxo AB i Ste-nungsund har undersökts med avseende på akut toxicitet för storspigg, en marin fiskart. Arbetet har skett inom ramen för "STORK projektet". För båda industrierna har avloppsvattnet erhållits via Norsk Institutt for Vannforskning. Även avloppsvatten, som genomgått nedbrytbarhetstest (enl. OECD), undersöktes.

Resultaten visar för Berol Nobel AB ett LC50 värde för 48h på 3.0 procent avloppsvatten. En test med nedbrutet vatten utfördes även, men resultaten kunde inte användas på grund av dålig kondition hos testfisken.

För Neste Oxo AB erhöles ett 48h LC50 värde på 48 procent avloppsvatteninblandning. Det nedbrutna vattnet gav ett motsvarande LC50 värde på 68%

Förutom dödlighet registrerades även subletala (icke dödliga) effekter som beteendeförändringar, och här erhöles för Berol nedsatt aktivitet för 50% av djuren (EC50 värde) vid 2% inblandning. För Neste Oxo erhöles ett 48h EC50 värde på 35 procent, medan det nedbrutna vattnet gav ett motsvarande värde på 58 procent avloppsvatteninblandning.

Undersökta avloppsvatten

Vattenprover uttogs genom NIVA:s försorg dagligen enl. ett fastställt schema under ett antal veckor. För Berol Nobel AB togs vattnet vid uttagpunkt A4 (enl. företagets beteckning), vilket motsvarar ett totalavloppsvatten före slutlig spädning. Neste Oxo-vattnet uttogs från befintlig sedimenteringsbassäng. Båda vatt-
nen motsvarar dem som undersöktes 1983 i samband med MUST-
utredningen. Vattnen levererades frusna till KMBS och användes ofiltrerade.

Följande data uppmättes:

	salthalt	pH
	0/00	
Berol	1.1	8.0
Neste	1.3	7.7
Neste nedbr.	1.3	6.7
Havsvatten	31.1	7.9
Syntetiskt havsvatten	30.4	7.9

Försöksdjur

Storspigg (*Gasterosteus aculeatus* L.) med en längd av 30 - 50 mm fångade i Gullmarsfjorden. Till varje försökstank användes 10 st fiskar.

Försöksbetingelser

Försöket utfördes under 48 timmar med semistatisk teknik med vattenbyte en gång per dygn. Metodiken ansluter till svensk standard (SS028162) och testen utfördes på samma sätt som en tidigare test 1983 (Granmo, 1984). På grund av en begränsad tillgång på avloppsvatten valdes dock försökstiden till 48h.

Försökstankarna var tillverkade av glas, och vattenvolymen var 7 l. Temperaturen under försöket hölls vid 11°C +- 1°C.

För att öka syremättnaden luftades det nya vattnet med luftstenar omedelbart före vattenbyte. Vattnets syrehalt kontrollerades under försökets gång och befanns genomgående ha en tillfredsställande nivå (> 70% mättnad).

Före spädningen av avloppsvattnen justerades deras salthalt till havsvattennivå genom tillsats av salter enl. Brujeviczs (1931). Avloppsvattnens pH-värde justerades så att de blev ungefär samma som havsvattnets.

För utspädning användes vatten från Gullmarsfjorden (35 m) med 31% salthalt. Som kontroll användes dels tankar med syntetiskt dels naturligt havsvatten.

Prövade koncentrationer var:

Berol:	0,1, 1, 10 och 100 %
Neste:	0,1, 1, 10 och 100 %
Neste näbr.:	25, 50 och 100 %

Avläsningar gjordes regelbundet under försökets gång. Förutom dödlighet noterades även avvikelser från normalt beteende hos fiskarna, såsom passivitet, balansstörningar och förändrad andningsfrekvens. Kumulativ dödlighet avsattes mot tiden för respektive koncentration och letal koncentration för 50% dödlighet beräknades enl. Spearman Karber (Hamilton *et al.* 1978).

Beteendeförändringarna har uttryckts som 48h EC50, och beräknats på motsvarande sätt som LC50 värdena.

RESULTAT

BEROL NOBEL AB

Dödligheten framgår av fig. 1. Som synes har avloppsvattnet en rel. hög toxicitet. Jämfört med en liknande test utförd 1983 (LC50 = 2 %) är dock avloppsvattnet något mindre toxiskt (LC50 = 3 %).

Beteendeförändringar i form av passivitet uppträdde i koncentrationer ner till 1 % medan det mediana värdet beräknades till 2 procent avloppsvatteninblandning.

NESTE OXO AB

För Neste Oxo:s avloppsvatten erhöles ett 48h LC50-värde på 48% inblandning (fig. 2), medan en median effekt uppträdde i form av passivitet hos testfisken vid 35%. Motsvarande värden från 1983 är ett 48 h LC 50 på ca. 69% och ett EC 50 värde på ca. 25 procent avloppsvatteninblandning. Sedan 1983 har dock Neste:s reningsanläggning kraftigt förändrats varför direkta jämförelser inte kan göras.

För det nedbrutna vattnet blev 48h LC50 värdet 58%^{*} (fig.2).

Undersökningen har utförts vid Kristinebergs marinbiologiska station under september månad 1990 av Esbjörn Telemo och Åke Granmo.

LITTERATUR

Brujewicz, S.W. 1931: In N.N. Subow et al. Ed. Oceanographical Tables. Oceanographical Institute, Hydro-Meteorological Committee of USSR, Moscow p. 146.

Granmo, Å. 1984. : Översiktsplan samt biologiska tester av industriavloppsvatten från Stenungsund. SNV rapp. PM 1845.

Hamilton, M.a., R.C. Russo and R.V. Thurston 1977.: Trimmed Spearman-Kärber method for estimating median lethal concentrations in toxicity bioassays. Environ. Sci. Technol. 11(7):714-719.

Fiskebäckskil 1990-10-23



Åke Granmo

* OBS. Koncentrationerna av avloppsvatten efter nedbrytning är inte korrigerade för den utspädning som gjordes vid nedbrytbarhetstesten (82:100). De angivna koncentrationerna skall alltså multipliceras med 0.85 för att representera det ursprungliga avloppsvattnet.

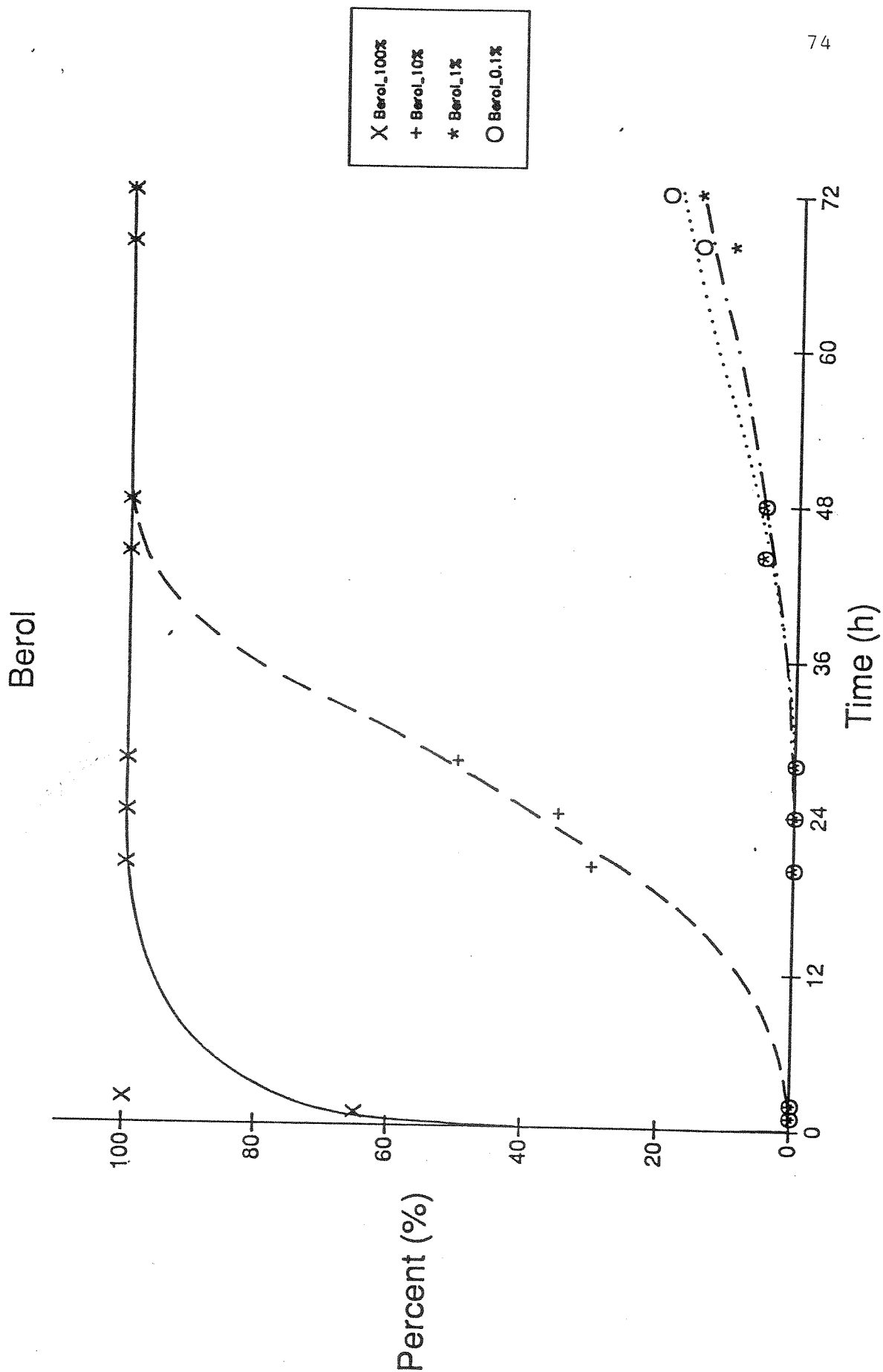


Fig. 1. Kumulativ dödlighet hos storspigg vid exponering för avloppsvatten från Berol Nobel AB.

Neste / Neste degraded

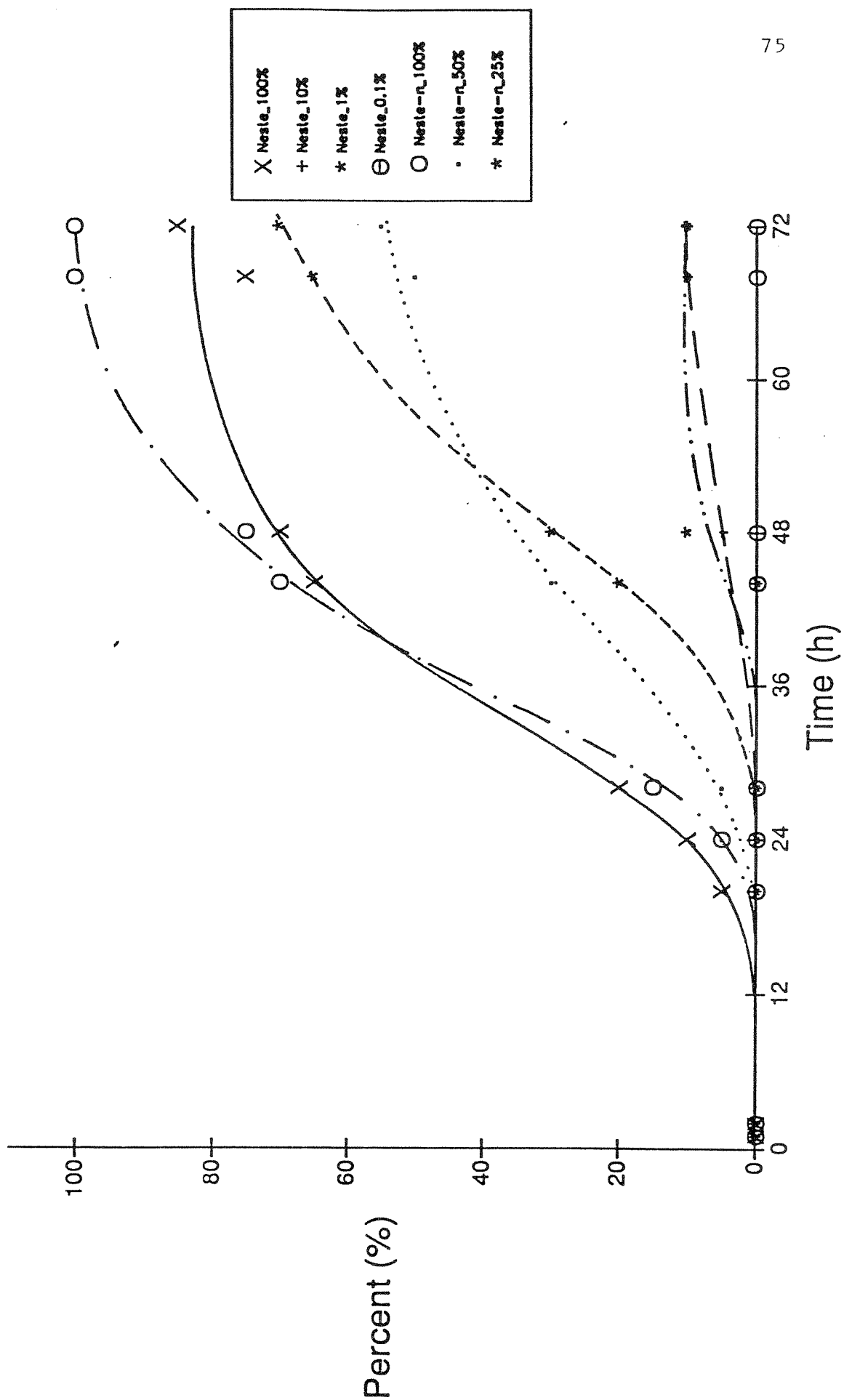


Fig. 2. Kumulativ dödlighet hos storspigg vid exponering för avloppsvatten från Neste Oxo AB. "Neste-n" i diagrammet betecknar avloppsvatten som genomgått nedbrytbarhetstest.

APPENDIX 11

Ames test

Salmonella/mikrosomtesten er en genotoksisk korttidstest. En beskrivelse av testen er presentert i vedlegg. I disse forsøkene er bakteriestammene TA 98 og TA100 blitt benyttet. Disse har forskjellig følsomhet overfor ulike typer forbindelser. TA 98 er mest følsom overfor mutagener som induserer leserammeforskjyvnng. TA 100 er mest følsom for mutagener som induserer baseparsubstitusjon.

Enkelte forbindelser er mutagener, såkalte direkte mutagener, andre er mutagene bare etter omvandling (metabolisering) i organismen. For å simulere denne metaboliseringen, testes prøvene både med og uten tilsats av et leverenzympreparat (S9).

Et vanlig krav til positivt utslag i Salmonella/mikrosomtesten er en dobling av antall mutantkolonier i forhold til bakgrunnen (spontanmutasjoner) og/eller en klar lineær doserespons sammenheng.

RESULTATER.

Resultatene fra testingen er presentert i tabellene 1,2,3 OG 4 og viser ingen mutagene effekter i Ames' test da antallet kolonier på prøveplatene ikke er vesentlig forskjellig fra blindprøvene. I høyere doser på 50-100µl var antallet kolonier lavere enn blindprøven. Dette tyder på at prøvene virker toksiske på bakteriene i for høye doser.

Vedlegg

NESTE OXO, STENUNGSUND

Tabell 1. Mutagenitetstesting med Salmonella/levermikrosom-testen av ekstrakter av avløpsvann. Tallene i tabellen representerer antall kolonier pr. plate. (gjennomsnitt av 2 plater, 5 plater av ubehandlede kontroller)

Prøve	Vol µl	Bakteristamme Ta98-S9		
		forsøk 1	forsøk 2	forsøk 3
Før nedbr.	5		24	
	10		21	
	20	24	36	20
	50	21		tox
	1 00			tox
Etter nedbr.	5		32	
	10		28	
	20	26		21
	50	29		26
	1 00			TOX
Kontr. 0,2µg NP		20	29	18
		1800	1700	2000

Vedlegg

NESTE OXO, STENUNGSUND

Tabell 2. Mutagenitetstesting med Salmonella/levermikrosom-testen av ekstrakter av avløpsvann. Tallene i tabellen representerer antall kolonier pr. plate. (gjennomsnitt av 2 plater, 5 plater av ubehandlede kontroller)

Prøve	vol µl	Bakteristamme Ta98+S9		
		forsøk 1	forsøk 2	forsøk 3
Før nedbr.	5		18	
	10		27	
	20	20	43	20
	50	22		tox
	1 00			tox
Etter nedbr.	5		26	
	10		23	
	20	23		27
	50	28		16
	1 00			tox
Kontr. 5µg BaP		21	27	23
		225	250	360

Vedlegg

NESTE OXO, STENUNGSUND

Tabell 3. Mutagenitetstesting med Salmonella/levermikrosom-testen av ekstrakter av avløpsvann. Tallene i tabellen representerer antall kolonier pr. plate. (gjennomsnitt av 2 plater, 5 plater av ubehandlede kontroller)

Prøve	Vol µl	Bakteriestamme Ta100-S9		
		forsøk 1	forsøk 2	forsøk 3
Før nedbr.	5		112	
	10		125	133
	20	119	131	110
	50	tox		112
Etter nedbr.	5		142	
	10		132	107
	20		147	
	50			75
Kontr. 2µg NP		115	120	110
		2000	1500	1600

Vedlegg

NESTE OXO, STENUNGSUND

Tabell 4. Mutagenitetstesting med Salmonella/levermikrosom-testen av ekstrakter av avløpsvann. Tallene i tabellen representerer antall kolonier pr. plate. (gjennomsnitt av 2 plater, 5 plater av ubehandlede kontroller)

Prøve	Vol µl	Bakteriestamme Ta100+S9		
		forsøk 1	forsøk 2	forsøk 3
Før nedbr.	5		123	
	10		142	119
	20	103	122	97
	50			73
Etter nedbr.	5		122	
	10		113	105
	20		119	
	50			83
Kontr. 5µg BaP		110	125	114
		1200	1100	1100

Vedlegg

OPPARBEIDING AV VANNPRØVER TIL AMES TEST

Vannprøve på 800 ml. surgjøres til pH ca.2 med kons HCl, ekstraheres 3 ganger med dietyleter P.A. (350ml totalt.) Ekstraksjonen utføres i en 1L erlenmeyerkolbe med magnetrører på isbad i løpet av 3 t. Eterekstraktet fraskilles vannfasen. Siste rest av vann fryses ut over natten. Eterekstraktet inndampes på Rotavapor på vannbad til nesten tørrhet. Dimetylsulfoksyd (DMSO) 2ml tilsettes og siste rest av eter avdampes på varmeblokk under nitrogentilførsel.

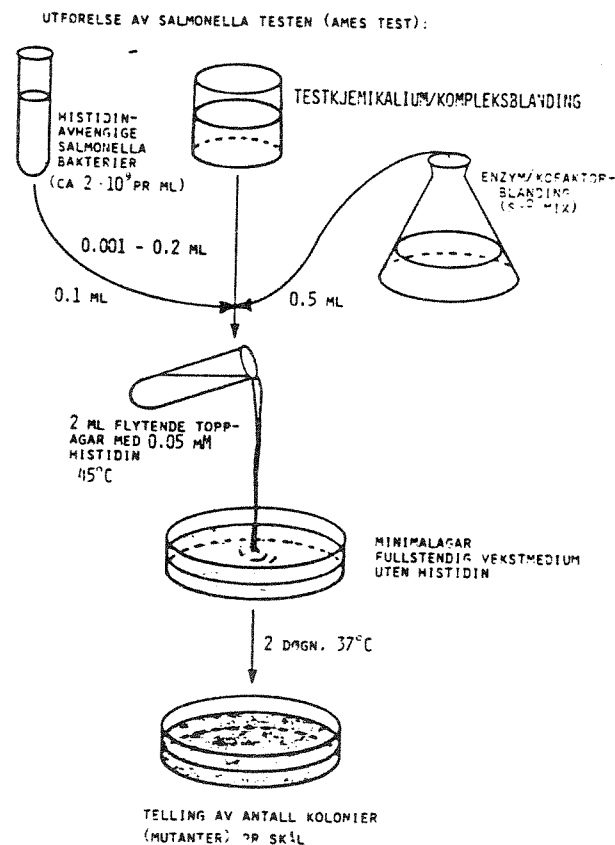
Lit.: Proceedings of the technical Association of the Pulp and Paper Industri 1982 s.382.

HVA ER AMES' TEST?

Ames' test (Salmonella-testen) benyttes til orienterende undersøkelser av stoffers mutagene (arvestoffskadende), eventuelt kreftfremkallende virkning. Ved forsøk er det funnet at 80-90% av de stoffer som er kreftfremkallende i dyreforsøk, også er mutagene i Ames' test. Metoden er en korttidstest med Salmonella-bakterier, utviklet av Bruce Ames, Berkeley, California.

Det anvendes spesielle Salmonella-bakterier, som mangler evnen til å gro uten aminosyren histidin, dvs bakteriene formerer seg ikke i fravær av histidin. For å vokse og danne kolonier på et histidin-fritt medium, må bakteriene gjennomgå en mutasjon. Et mutagent stoff vil føre til at et økt antall kolonier vokser opp.

Mange stoffer virker som aktive mutagener eller karsinogener først etter omdanning (metabolisering) i kroppen (indirekte mutagener). Bakterier, som har et meget enklere enzymesystem enn pattedyr, vil normalt ikke metabolisere indirekte mutagener. For å simulere betingelsene i pattedyr, aktiveres testsubstansen ved tilsetning av et leverenzympreparat fra rotter til testsystemet.



HVORDAN TESTES PRØVER I PRAKSIS?

Metoden utføres som beskrevet av Ames et al. (Mutation Research 31, 1975, 347).

Rent eksperimentelt gjøres følgende:

Til et reagensrør med 2 ml smeltet toppagar (45°C) tilsettes 0.1 ml bakteriekultur (ca 10^8 celler) og testsubstans. Det hele blandes raskt og helles over på vekstplater. (Minimalplater kun tilsatt spor av histidin for igangsettelse av vekst.) Til halvparten av skålene tilsettes leverenzymblanding (S9-mix), 25 mg protein/plate. Platene inkuberes ved 37°C, og etter 2 døgn telles antall kolonier (mutanter) på platene. Et vanlig krav til positivt resultat er en fordobling av antall revertanter i forhold til bakgrunnen, eller en lineær doseavhengighet. Prøvene testes i 3-5 doser, med to paralleller pr dose.

For å kontrollere antall spontanmutasjoner, inkluderes plater uten tilsatt av testsubstans. Som positive kontroller blir benzo(a)pyren (BaP) og 1-nitropyren (1NP) benyttet.

APPENDIX 12

Nedbrytbarhetstester

TESTRAPPORT**NEDBRYTBARHETSTEST: REDUKSJON I LØST ORGANISK KARBON OVER 28 DØGN**

Metode: ISO 7827 Evaluation in an aqueous medium of the "ultimate" aerobic biodegradability og organic compounds. Analysis of DOC.

TESTSTOFF: Avløpsvann, NESTE-OXO Stenungsund.

TESTBETINGELSER

APPARATUR: 100 L beholder (polyetylen), med magnetrørverk.

TEST-MEDIUM: Avløpsvann tilsatt saltløsninger og destillert vann til en fortykninggrad på 41:50, (82 %).

INOKULUM: Mikroorganismer fra luftet kom. avløpsvann (NS 4749) og effluent fra Husmann enhet (OECD) lab. anlegg.
Kimtall = 4×10^5 /ml. Tilsetning, 2 ml/L

INKUBASJON: Temperatur; 20 ± 1.0 °C . Varighet: 28 dager.

REFERANSE STOFF: Anilin 20 mg C/l
Nedbrytningsgrad, DOC reduksjon: 80 % etter 7 og 90 % etter 28 døgn.

Dato for test-start: 15.06. 1990

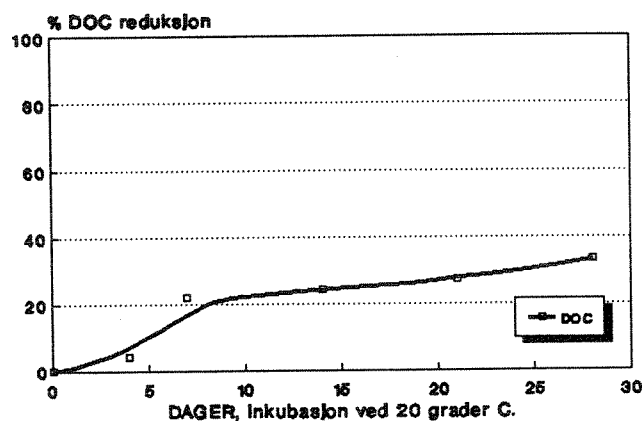
RESULTATER:Løst organisk karbon DOC

Neste-OXO	Konsentrasjon etter x dager (mg/l C)					
	0	4	7	14	21	28
Avl.vann 82% i dest.v. tils.næringssalter	28.2	27.1	22.1	21.4	20.7	18.9

Evaluering av DOC-data

Døgn fra start	% DOC reduksjon etter x dager				
	4	7	14	21	28
DOC-reduksjon	4	22	24	27	33

Diagram:



TESTRAPPORT**BIOOKSIDASJON AV LETT NEDBRYTBART ORGANISK STOFF**

Evaluation in an aqueous medium of the "ultimate" aerobic biodegradability of organic compounds. ISO 9408

TESTSTOFF: Avløpsvann, NESTE-OXO Stenungsund.

TESTAPPARATUR: Manometrisk respirometer, WtW 2001

NÆRINGSLØSNING: ISO/DIS 9408 Saltløsn. A, 10 ml/L (1,3 mg N/L)

INOCULUM: Effluent fra biologisk lab. enhet (Husmann unit) dyrket i OECD syntetisk kloakk og luftet kom. avløpsvann (NS 4749).
Kimtall/ml: $3,5 \cdot 10^5$. Tilsetning: 2 ml/L testløsning.

INKUBASJON: Temperatur: $20 \pm 1^\circ \text{C}$. Varighet: 28 dager.
pH: Start 7,6 Slutt: 8,0

Testperiode: 22.08 -19.09.1990

Testkonsentrasjon: 1:2 fortyning

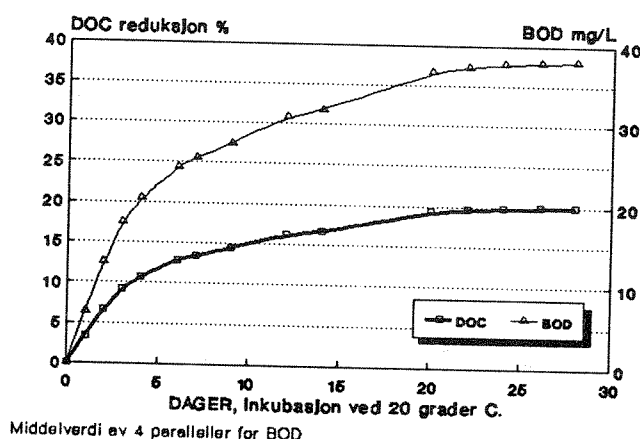
13,6 mg/L DOC

TOC-verdiene på MF-filtrerte prøver ved start (dag₀) og etter 28 døgn bionedbrytning er ikke korrigert for DOC₀ og DOC₂₈ i blank-prøve (inoculum).

RESULTATER: BOD₂₈ = 38 mg/L DOC-reduksjon = 20 %

	Analyser, mg/L			% DOC-reduksjon
	BOD ₂₈	DOC ₀	DOC ₂₈	
Testprøve (1:2)	19,0	13,6	10,9	20 %

BOD utvikling:



Kommentarer:

Bioksidasjon målt som BOD er svært usikker, fordi det ble analysert meget høy konsentrasjon av nitrat i testprøven etter 28 døgn. Konsentrasjonen av nitrat ble ikke målt ved start.

Testansvarlig: H. Efraimsen

REFERANSE: 1. ISO/DIS 9408 Water Quality- Evaluation in a aqueous medium of the "ultimate" biodegradability of organic compounds- Method by determining the oxygen demand in closed respirometer.
2. TOC og DOC (filtrert, mf 0,45 µm) er analysert på ASTRO mod. 2001 TOC/TC analysator. Oppslutningsmetoden er en UV katalysert kjemisk oksidasjon med peroxodisulfat.

TESTRAPPORT**NEDBRYTBARHETSTEST: REDUKSJON I LØST ORGANISK KARBON OVER 28 DØGN**

Metode: Modified (Seawater) ISO 7827 Evaluation in an aqueous medium of the "ultimate" aerobic biodegradability og organic compounds.
Analysis of DOC in Seawater

TESTSTOFF: NESTE-OXO Stenungsund. Avløpsvann, 1:2 i sjøvann

TESTBETINGELSER

APPARATUR: 25 L beholder (glassflaske), med magnetrørverk.

TEST-MEDIUM: Sjøvann (fra 40 m dyp utenfor Solbergstrand forsøksstasjon) lagret i 3 døgn ved 4 °C før bruk. Dekantert sjøvann ble blandet med avløpsvann og tilsatt 1 ml/L av løsn. a,b,c,d. 5 mg/L NH₄Cl ble tilsatt. Bl.forhold, avl./sjøv. 1:2.

INOKULUM: Mikroorganismer fra luftet kom. avløpsvann (NS 4749) og effluent fra Husmann enhet (OECD) lab. anlegg.
Kimtall = 4 x 10⁵ /ml. Tilsetning, 0,5 ml/L
Sjøvannets kimtall= 750/ml

INKUBASJON: Temperatur: 4-5 °C . Varighet: 28 dager.

Dato for test-start: 27.06. 1990

RESULTATER:**Løst organisk karbon DOC**

NESTE-OXO Stenungsund	Konsentrasjon etter x dager (mg/l C)					
	0	4	7	14	21	28
Avl.vann 1:1 i sjøvann tils.næringsalter	13,8	13,7	13,7	13,9	13,6	14,0

Evaluering av DOC-data

Døgn fra start	% DOC reduksjon etter x dager				
	4	7	14	21	28
DOC-reduksjon	-	-	-	-	-

Anm: Ingen nedbrytning ble påvist i løpet av 28 døgn inkubasjon.

TESTRAPPORT

BIOOKSIDASJON AV LETT NEDBRYTBART ORGANISK STOFF

Evaluation in an aqueous medium of the "ultimate" aerobic biodegradability of organic compounds. ISO 9408

TESTSTOFF: Avløpsvann, NESTE-OXO Stenungsund.

TESTAPPARATUR: Manometrisk respirometer, WtW 2001

NÆRINGSLØSNING: ISO/DIS 9408 Saltløsn. A, 1 ml/L (1,3 mg N/L) SJØVANN

INOCULUM: Effluent fra biologisk lab. enhet (Husmann unit) dyrket i OECD syntetisk kloakk og luftet kom. avløpsvann (NS 4749).
Kimtall/ml: $4,0 \cdot 10^5$. Tilsetning: 2 ml/L testløsning.

INKUBASJON: Temperatur: $4 \pm 10^\circ \text{C}$. Varighet: 28 dager.
pH: Start 7,6 Slutt: 7,6

Testperiode: 04.07 -01.08.1990

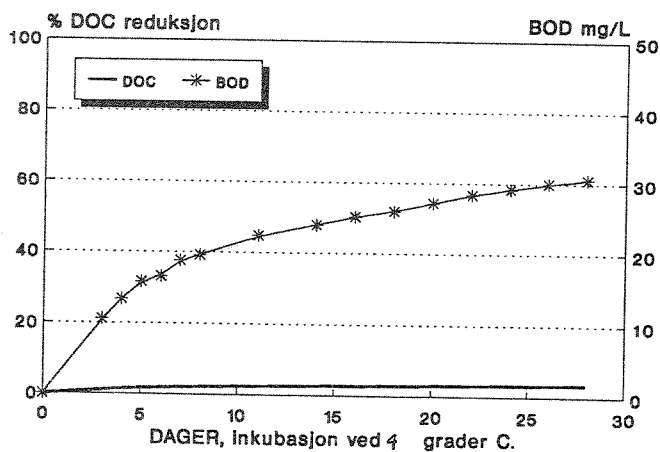
Testkonsentrasjon: 1:2 avløpsvann i sjøvann, mg/L DOC

TOC-verdiene på MF-filtrerte prøver ved start (dag₀) og etter 28 dogn bio-
nedbrytning er ikke korrigert for DOC₀ og DOC₂₈ i blank-prøve (inoculum).

RESULTATER: BOD₂₈ = 31 mg/L DOC-reduksjon = 3,5 %

Testprøve (1:2)	Analyser, mg/L			% DOC-reduksjon
	BOD ₂₈	DOC ₀	DOC ₂₈	
Testprøve (1:2)	15,3	14,5	14,0	3,5

BOD-utvikling:



BOD, middelverdi av triplikater

Kommentarer: Biooksidasjon viste en rask utvikling under de 7-8 første dogn av inkubasjon, for å avta i den etterfølgende periode.

Testansvarlig: H. Efraimsen

REFERANSE: 1. ISO/DIS 9408 Water Quality- Evaluation in a aqueous medium of the "ultimate" biodegradability of organic compounds- Method by determining the oxygen demand in closed respirometer. 2. TOC og DOC (filtrert, mf 0,45 µm) er analysert på ASTRO mod. 2001 TOC/TC analysator. Oppslutningsmetoden er en UV katalysert kjemisk oksidasjon med peroxodisulfat.

APPENDIX 13

Metoder

Metodebeskrivelser

TOC (Totalt organisk karbon)

Totalt organisk karbon er analysert på ASTRO mod. 2001 TOC/TC analysator. Oppslutningsmetoden er en UV-katalysert oksidasjon med peroxodisulfat.

DOC (Løst organisk karbon)

Analysert som TOC etter filtrering gjennom 0.45 mm membranfilter.

Øvrige metoder

For øvrige metoder vises til refererte standarder og/eller respektive bilag.

Ekstraherbart organisk halogen (EOX) klor-brom eller jod

Vannprøven ble surgjort med vann (pH ca 2) og ekstrahert to ganger med heksan. Heksanekstraktene ble kombinert og en eventuell emulsjon fjernet ved utsalting med natriumklorid. Ekstraktene ble vasket med surgjort vann (pH ca 2) og tørket med natriumsulfat. Ekstraktet ble oppkonsentrert ved 40°C med svakt vakuum og N₂-strøm til ca 2-4 ml. EOX ble bestemt i en delmengde av ekstraktet ved nøytronaktivering (NAA). Nøytronaktiveringsanalysen ble utført på Institutt for Energiteknikk, Kjeller.

Deteksjonsgrensen for nøytronaktiveringsanalysen:

EOCl	10-20	µg/l	vannprøve
EOBr	1-2	"	"
EOJ	1-2	"	"

Norsk institutt for vannforskning  NIVA

Postboks 69, Korsvoll
0808 Oslo 8