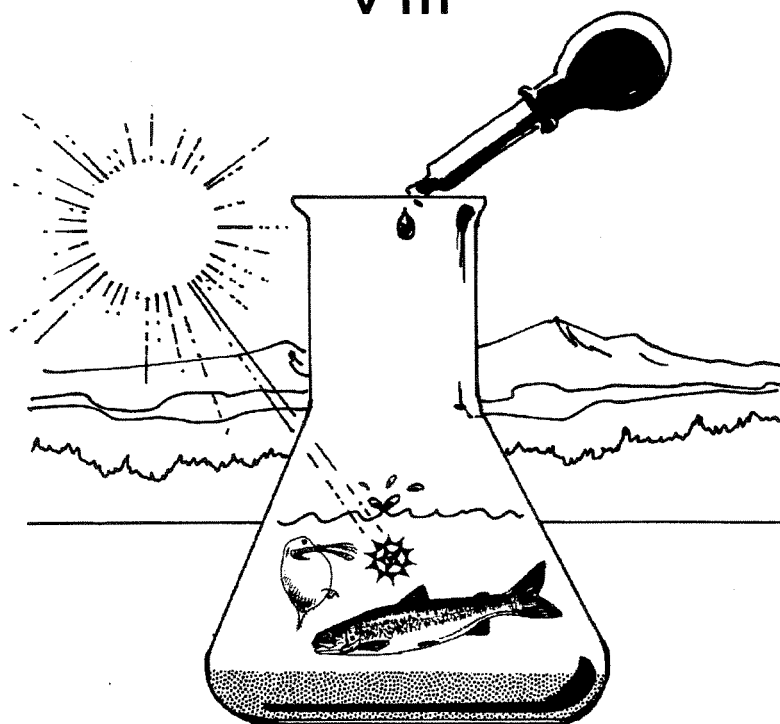



O-94274

Økotoksikologisk testing av avløpsvann fra

# Borregaard Fine Chemicals AS VIII



# NIVA - RAPPORT

Norsk institutt for vannforskning  NIVA

Prosjektnr.:	Undemr.:
94274	
Løpenr.:	Begr. distrib.:
3336	

<b>Hovedkontor</b>	<b>Sørlandsavdelingen</b>	<b>Østlandsavdelingen</b>	<b>Vestlandsavdelingen</b>	<b>Akvaplan-NIVA A/S</b>
Postboks 173, Kjelsås 0411 Oslo Telefon (47) 22 18 51 00 Telefax (47) 22 18 52 00	Televeien 1 4890 Grimstad Telefon (47) 37 04 30 33 Telefax (47) 37 04 45 13	Rute 866 2312 Ottestad Telefon (47) 62 57 64 00 Telefax (47) 62 57 66 53	Thormøhlensgt 55 5008 Bergen Telefon (47) 55 32 56 40 Telefax (47) 55 32 88 33	Søndre Tollbugate 3 9000 Tromsø Telefon (47) 77 68 52 80 Telefax (47) 77 68 05 09

Rapportens tittel:	Dato:	Trykket:
Økotoksikologisk testing av avløpsvann fra Borregaard Fine Chemicals AS Rapport nr VIII		NIVA 1995
Forfatter(e):	Faggruppe:	
August Tobiesen	Miljøtoksikologi	
	Geografisk område:	
	Østfold	
	Antall sider:	Opplag:
		25

Oppdragsgiver:	Oppdragsg. ref.:
Borregaard Fine Chemicals	O.A. Linstad

## Ekstrakt:

En økotoksikologisk karakterisering er utført på avløpsvann BCF 04/05/06/07 fra Borregaard Fine Chemicals, Sarpsborg. Karakteriseringen omfatter toksisitetstester med alger, dafnia og fisk, samt nedbrytbarhet. Potensielt bioakkumulerbare komponenter ble undersøkt ved en HPLC metode for bestemmelse av fordelingen oktanol/vann ( $P_{ow}$ )

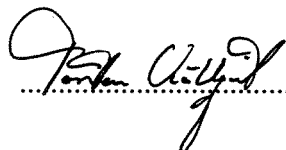
4 emneord, norske

1. Toksisitet
2. Nedbrytbarhet
3. Bioakkumulering
4. Industriavløp

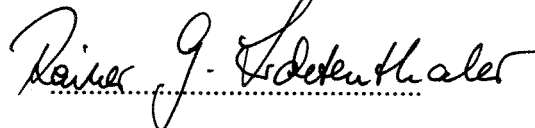
4 emneord, engelske

1. Toxicity
2. Biological degradation
3. Bioaccumulation
4. Industrial waste water

Prosjektleder

  
.....

For administrasjonen

  
.....

..... ISBN 82-577-2765-2 .....

Norst Institutt for Vannforskning NIVA

O-94274

Økotoksikologisk testing av avløpsvann

fra Borregaard Fine Chemicals AS

VIII

Oslo 26.10.95

Prosjektleder: Torsten Källqvist  
Medarbeidere: Harry Efraimsen  
Magne Grande  
Randi Romstad  
Torgunn Sætre  
August Tobiesen

INNHold	
BAKGRUNN .....	2
BESKRIVELSE AV PRØVER .....	2
TESTPROGRAM .....	2
RESULTATER .....	2
Toksisitet .....	2
Bioakkumuleringspotensiale .....	3
Nedbrytbarhet .....	3
SAMLET VURDERING .....	3
VEDLEGG 1 .....	4
VEDLEGG 2 .....	8
VEDLEGG 3 .....	11
VEDLEGG 4 .....	14
VEDLEGG 5 .....	19

# BAKGRUNN

Borregaard Fine Chemicals henvendte seg i august 1995 til NIVA for å få utført en økotoksikologisk karakterisering av et avløpsvann etter samme program som tidligere.

## BESKRIVELSE AV PRØVER

Prøven som ble motatt var moderlut fra automatisk prøvetaker merket BFC 04/05/06/07 uke 33-95. Prøven ble motatt på NIVA 28.08.95 i en 25 l plastkanne.

## TESTPROGRAM

Programmet for karakterisering av prøven omfattet :

### Toksisitetstester

Alger ( <i>Selenastrum capricornutum</i> )	OECD 201,ISO/DIS 8692
Vannlopper ( <i>Daphnia magna</i> )	OECD 202,ISO 6341
Fisk (ørret, <i>Salmo trutta</i> )	OECD 203, NS 4717

### Nedbrytbarhetstest

Manometrisk respirasjonstest	ISO/DIS 9408, OECD 301 F
------------------------------	--------------------------

### Test av potensiell bioakkumulerbarhet

Fordelingskoeffisient oktanol/vann	OECD 117
------------------------------------	----------

## RESULTATER

### Toksisitet

Testrapporter er samlet i vedlegg. Resultatene av toksisitetstestene er sammenstillt i tabell 1.

Tabell 1. Resultatene av toksisitetstester av avløpsvannet BFC 04/05/06/07. (EC50=konsentrasjon som gir 50 % hemming, LC50=konsentrasjon som gir 50 % dødelighet)

Prøve	Alger	Daphnia	Fisk
	EC <sub>50</sub> (%)	LC <sub>50</sub> (%)	LC <sub>50</sub> (%)
BFC 04/05/06/07	24	48	>25

Fisketesten ble kun utført med to konsentrasjoner 15 % OG 25 %. Det var ingen dødelighet ved 15 % og kun en død ved 25 %. Etersom mortaliteten var mindre enn 50 % ved høyeste konsentrasjon kan ikke LC50 for fisk beregnes. I død fisk regnes ikke for signifikant dødelighet, men kombinert med observasjon av toksiske symptomer observert ved 25 % blir NOEC i denne testen satt til 15 %. I Daphnia testen ble høyeste konsentrasjon med ingen dødelighet (immobilisering) funnet å være 6.3 % etter 48 timer. Laveste konsentrasjon med 100% dødelighet etter 48 timer var >63 %. EC50

verdien etter 48 timer ble beregnet til 47 %. Høyeste konsentrasjon med signifikant veksthemming av algen *Selenastrum capricornutum* var 10 %. Det var ingen signifikant vekst ved 90 %. EC50 for veksthemming ble beregnet til 24 %. Toksisitetstestene tyder på at alger er mest sensitive ovenfor dette avløpsvannet, men ikke mer enn at effekt konsentrasjonen for alger og fisk er sammenlignbare.

## Bioakkumuleringspotensiale

Innhold av potensielt bioakkumulerende organiske stoffer er undersøkt ved en HPLC-metode for bestemmelse av fordelingskoeffisient til oktanol/vann. Vurderingen av bioakkumuleringspotensialet bygger på at bioakkumulering er korrelert med fettløslighet. Stoffer med oktanol/vann fordeling på over 1000 ( $\log P_{ow} > 3$ ) regnes som potensielt bioakkumulerende.

Ved analysen ekstraheres den organiske fraksjon i et løsemiddel og opparbeides for analyse på en HPLC-kolonne. Ved eluering av kolonnen fremkommer ulike komponenter som kan detekteres med UV eller RI. Komponentenes  $P_{ow}$  bestemmes fra retensjonstiden ved sammenligning med en rekke referansestoffer med kjent  $P_{ow}$ . Med denne metoden kan  $P_{ow}$  til enkeltkomponenter i avløpsvann bestemmes, men uten at disse blir kjemisk identifisert eller kvantisert.

Prøven BFC 04/05/06/07 ble injisert som ekstrakt i syklohexan/dietyler på en HPLC-kolonne og detektert med UV detektor. Analysen ga tilsammen 5 topper som representerer stoffer med  $\log P_{ow}$  fra  $< 0 - 5.1$ . Bare en av toppene hadde en  $P_{ow}$  på 3 eller mer. Hver av disse toppene kan utgjøre 1 eller flere komponenter. Vanligvis representerer en topp likevel kun en komponent.

## Nedbrytbarhet

Resultatene av nedbrytbarhetstestene er sammenfattet i tabell 2.

Prøven BCF 04/05/06/07 inneholdt ca. 3.5 g/l av løst organisk karbon. Nedbrytningen startet umiddelbart og viste et jevnt forløp. DOC-reduksjonen var 78 % etter 28 døgn. Det forhold at det er en tydelig avflating av oksygenforbruket mot slutten av testperioden tyder på at det resterende organiske materialet i teststoffet vil kun vil brytes ned ytterligere relativt sakte. Forholdet BOD<sub>28</sub>/COD på 85 % verifiserer at nær alt nedbrytbart stoff var i form av DOC, dvs lite partikulært organisk materiale.

Tabell 2. Løst organisk karbon (DOC) biokjemisk oxygenforbruk (BOD<sub>28</sub>), Kjemisk oxygenforbruk (COD) og reduksjon av DOC ved nedbrytbarhetstesten (mg/l).

Prøve	DOC	DOC-red.	BOD <sub>28</sub>	COD	BOD <sub>28</sub> /COD
BCF 04/05/06/07	2730	66 %	5400	8600	85%

## SAMLET VURDERING

Avløpsvannet har et høyt innhold av løst organisk stoff som er relativt lett biologisk nedbrytbart. Vannet var lite giftig for alger, daphnier og fisk, men mest giftig ovenfor alger. Innholdet av løst organisk karbon (DOC) ved EC50-verdien for alger var 840 mg/l. Grenseverdien for miljøfarlig stoff er 100 mg/l på vektbasis Avløpsvannet inneholdt kun en komponent som på grunnlag av fettløseligheten kan antas å være bioakkumulerbar.

# **VEDLEGG 1**

Toksisitetstest med alger

# TEST RAPPORT

Norsk  
Institutt  
for  
Vannforskning

Postboks 69 Korsvoll  
0808 Oslo  
Tel: 22 18 51 00  
Fax: 22 18 52 00

## Alger, veksthemmingstest *Selenastrum capricornutum*



Teststoff: **BCF 04/05/06/07**  
Kunde: Borregaard F.C.


Lab. kode: **B201/1**  
Prøve mottatt: 28.08.95

Testmetode: ISO 8692, OECD 201: Alga growth inhibition test  
Organisme: *Selenastrum capricornutum* NIVA CHL1  
Testparameter: Veksthastighet fra start til 75 timer  
Stamkultur: Semi-kontinuerlig i 10% Z8 vekstmedium (Staub 1961)  
Start dato: 29.08. 1995  
Forbehandling av prøve: Nøytralisert med kons. HCl, filtrert gjennom 0.45 µm membranfilter  
Konsentrasjoner: 5.6, 10, 18, 32, 56 og 90 %  
Test medium: ISO DIS 8692  
Inkuberingsutstyr: Gyngebord  
Dyrkingsflasker: 100 ml ståkolber med 50 ml medium  
Lys: 70 µE m<sup>2</sup> s<sup>-1</sup>, kontinuerlig fra dagslys-type lysstoffrør  
Temperatur: 20.1-21.1 °C  
pH i kontroll Start : 7.8 Slutt:7.8  
pH i høyeste konsentrasjon Start : 7.6 Slutt: 8.3  
Vekstmåling: Partikkeltelling med Coulter Multisizer  
Beregning av EC<sub>50</sub> \* Probit transformering og lineær regresjon av probit verdier mot log. konsentrasjon  
Beregning av NOEC \*\* t-test 99 % konfidensintervall

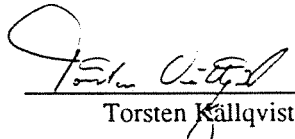
**Resultater:** Celletetthet på hvert målepunkt, det beregnede areal under vekstkurve og veksthastighet i hver kolbe er vist på vedlagt skjema. Middelveier for kontroller og ulike konsentrasjoner av teststoff er listet lengst ned på skjemaet. Vekstkurver for hver konsentrasjon av teststoffet er vist i figur 1. Konsentrasjon/responskurven er vist i figur 2.

Parameter	Enhet	EC <sub>50</sub>	95% konf. int.	EC <sub>10</sub>	95% konf. int.	NOEC
Veksthastighet	%	24	20-28	7.3	5.8-9.2	<5.6

Testen utført av:

  
August Tobiesen

Kontrollert:

  
Torsten Källqvist

\* EC<sub>50</sub> = Den konsentrasjon som gir 50% reduksjon av testparameteren i forhold til kontrollkulturer

\*\* NOEC = Høyeste testede konsentrasjon uten signifikant effekt



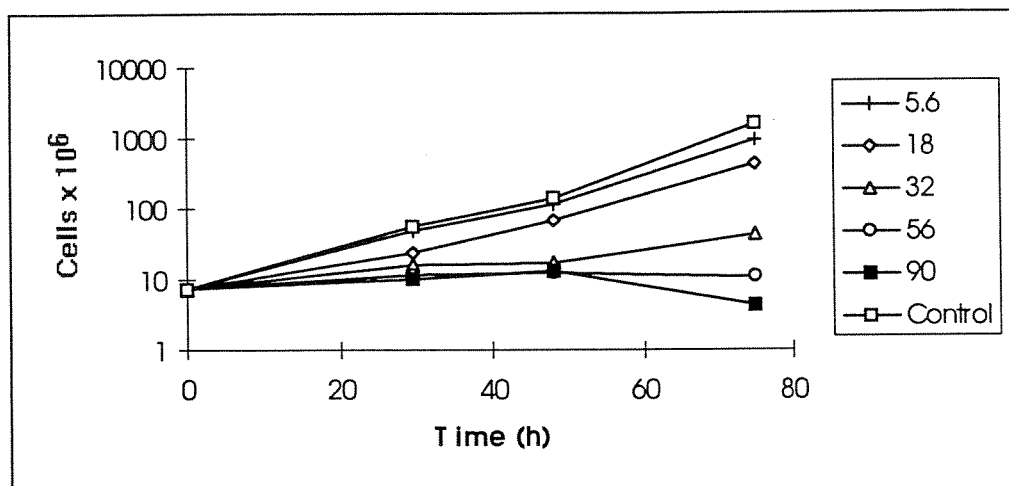


Fig. 1. Vekstkurver for *Selenastrum capricornutum* i ulike konsentrasjoner (%) av utslipp av BCF 04/05/06/07 uke 33.

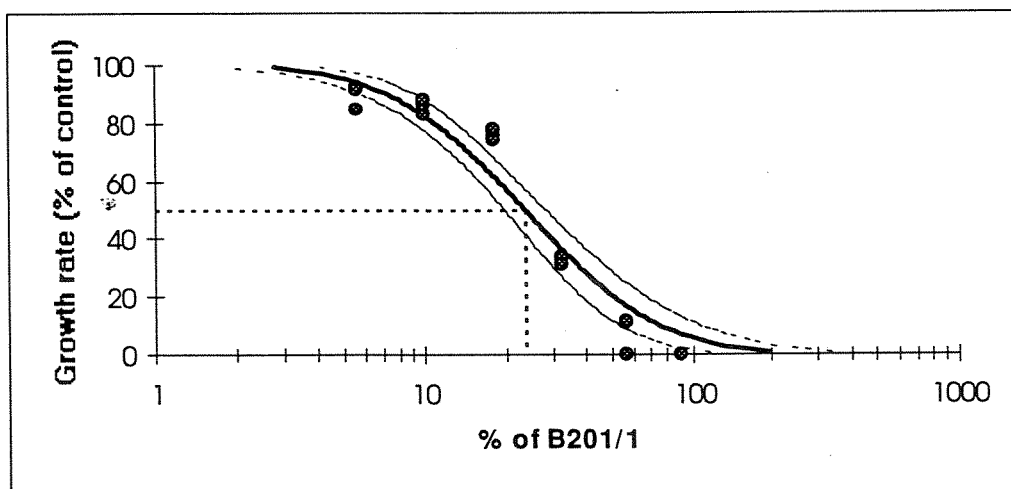


Fig. 2. Effekt av prøve BCF 04/05/06/07 uke 33 på veksthastigheten til *Selenastrum capricornutum*.

### Referenser:

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

OECD 1984: Guidelines for testing of chemicals, no. 201; Alga, growth inhibition test. OECD, Paris

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

TEST:>> ISO 10253

COMPOUND >>>> BCF 04/05/06/07uke 33

TEST ALGA >>>> *Skeletonema costatum*

INOCULUM >>>> 7.4 mill. cells/l

Date >> 29.08.95

Lab. code >>>> B201/1

Medium> Seawater ISO

		Day 1	Day 2	Day 3	Area	Area %	G. rate	G. rate%
Cons.	Hours: %	30.5 mill/l	48 mill/l	75 mill./l				
	5.6 "	43	96	695	12116	48	1.45	85
	5.6 "	49	121	1040	17461	70	1.58	93
	5.6 "	49	115	987	16620	66	1.57	92
	10 "	37	94	645	11240	45	1.43	84
	10 "	37	109	732	12741	51	1.47	86
	10 "	41	116	807	14005	56	1.50	88
	18 "	21	65	425	7262	29	1.30	76
	18 "	22	58	397	6741	27	1.27	75
	18 "	27	83	468	8382	33	1.33	78
	32 "	16	19	45	968	4	0.58	34
	32 "	17	18	44	966	4	0.57	33
	32 "	15	14	40	773	3	0.54	32
	56 "	12.4	13.5	14	339	1	0.19	11
	56 "	11.2	10.8	5.1	136	1	-0.12	-7
	56 "	11.4	11.7	14	279	1	0.20	12
	90 "	10.5	12.7	6.6	182	1	-0.04	-2
	90 "	10.3	13.1	3.6	145	1	-0.23	-13
	90 "	9.4	12.6	2.9	103	0	-0.30	-18
	"							
	"							
	"							
Control		42	133	1256	20472	82	1.64	96
		56	140	1530	24665	98	1.71	100
		62	145	1620	26137	104	1.72	101
		59	153	1700	27328	109	1.74	102
		58	146	1658	26579	106	1.73	101
		67	141	1544	25138	100	1.71	100

**MEAN VALUES**

mg/l

5.60 Mv.	47.07	110.67	907.33	15399	61.46	1.53	89.76
St. d.	2.67	10.66	151.69	2347	9.37	0.06	3.35
10.00 Mv.	37.93	106.33	728.00	12662	50.54	1.47	85.84
St. d.	1.82	9.18	66.20	1130	4.51	0.03	1.72
18.00 Mv.	23.60	68.87	430.00	7462	29.78	1.30	76.02
St. d.	2.64	10.58	29.20	685	2.73	0.02	1.26
32.00 Mv.	16.10	16.97	43.00	902	3.60	0.56	32.93
St. d.	1.06	1.85	2.16	91	0.36	0.02	0.96
56.00 Mv.	11.67	12.00	10.87	251.55	1.00	0.09	5.41
St. d.	0.52	1.12	4.08	85.43	0.34	0.15	8.76
90.00 Mv.	10.07	12.80	4.37	143.20	0.57	-0.19	-11.06
St. d.	0.48	0.22	1.60	32.11	0.13	0.11	6.52
Mv.	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
St. d.	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
Control Mv.	57.10	143.00	1551.33	25053	100.00	1.71	100.00
St. d.	7.73	6.14	144.87	2230	8.90	0.03	1.86
Coefficient of variation in control (%):					8.899788		1.862261

## **VEDLEGG 2**

Toksisitetstest med dafnier

## TEST RAPPORT

Norsk  
 Institutt  
 for  
 Vannforskning

Postboks 173 Kjelsås  
 0411 Oslo  
 Tel: 22 18 51 00  
 Fax: 22 18 52 00

Akutt toksisitet  
*Daphnia magna*



Teststoff: Utslipp BFC 04/05/06/07 uke 33-95      Lab. kode: B201/1  
 Kunde: Borregaard Fine Chemicals      Prøve mottatt: 29.08.95

Testmetode      ISO 6341, "Water Quality - Determination of the inhibition of the motility of *Daphnia magna*" Metoden er i samsvar med OECD Guideline 202; "Daphnia sp. acute immobilization test"

Testorganisme      *Daphnia magna*, stamme A (Baird 1991). Vedlikeholdt i 5 µm filt. naturlig overflatevann tilsatt Elendt M7 (Elendt 1990) og foret med *Selenastrum capricornutum* som er dyrket i 10% Z8 næringssaltløsning (Staub 1961).

Testperiode      29.08 - 31.08.95

Forbehandling av prøve      pH justert fra 12.4 til 7.6 ved tilsetning av HCl

Fortynningsmedium      Elendt M7.

Testkonsentrasjoner      4.0, 6.3, 10, 16, 25, 40, 63%

Antall enheter      4 kar for hver konsentrasjon, med 5-7 dyr pr. kar. (totalt 13 dyr i 0.4 %)

Temperatur      20±0.5°C

pH i kontroll      Start: 7.8      Slutt: 8.0

pH i høyeste kons.      Start: 7.7      Slutt: 7.9

Oksygenmetning, 48 t      Kontroll: 9.2 ppm      63 % kons.: 7.5 ppm

Beregning av EC<sub>50</sub>      Probit-analyse (SNV-probit)

Referansestoff: Kaliumdikromat: 24t EC<sub>50</sub>= 1.99 mg/l

### Resultater:

Konsentrasjon/responskurve for immobilisering av *Daphnia magna* etter 48 timers eksponering er vist i figur 1. Antall immobiliserte dyr etter 24 og 48 timer er vist i tabell på side 2.

Parameter	Enhet	24 timer			48 timer		
		EC <sub>50</sub>	95% konf. int.	EC <sub>10</sub>	EC <sub>50</sub>	95% konf. int.	EC <sub>10</sub>
Immobilisering	%	60	-	-	47	36 - 69	30

Utført av: Randi Romstad  
 Randi Romstad

Testansvarlig: Torsten Källqvist  
 Torsten Källqvist

## Norsk institutt for vannforskning

Konsentrasjon	Antall dyr	Immobiliserte 24 tim.	Immobiliserte 48 tim.
Kontroll	20	0	0
4 %	20	0	0
6.3 %	20	0	0
10 %	20	1	1
16 %	21	0	0
25 %	20	0	1
40 %	20	0	3
63 %	20	13	19

Observert immobiliserte *Daphnia magna* etter 24 og 48 timer i kontroller og ulike konsentrasjoner av avløpsvann BFC 04/05/06/07, uke 33-95.

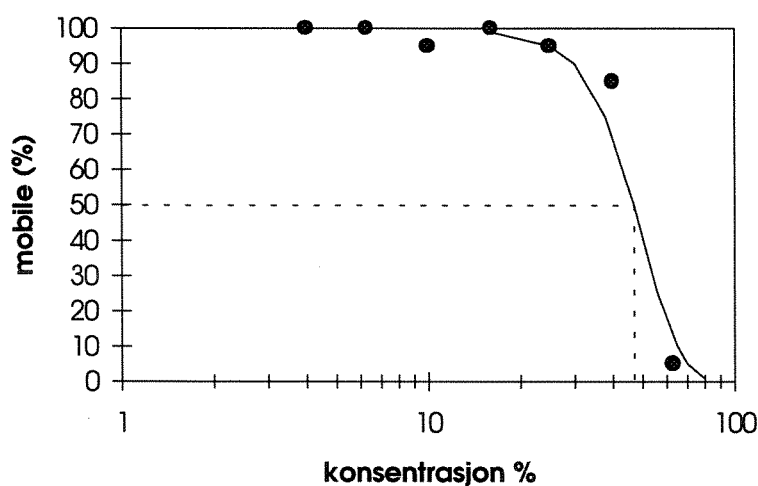


Fig. 1. Effekt av BFC 04/05/06/07 uke 33-95 etter 48 timer

## REFERENSER

Baird, D.J. et. al. 1991: A comparative study of genotype sensitivity to acute toxic stress using clones of *Daphnia magna* Strauss. *Ecotoxicology and Environmental Safety* Vol. 21, 257-265.

Elendt, B. P. (1990): Influence of Water Quality on the chronic toxicity of 3,4-dichloroaniline to *Daphnia magna*. *Water Research* Vol. 24 (9), 1169-1172.

ISO 1993: Water Quality - Determination of the inhibition of the mobility of *Daphnia magna* Straus (Cladocera, Crustacea) - Acute toxicity test. ISO/DIS 6341.

OECD 1984: *Daphnia* sp. Acute Immobilisation Test and Reproduction Test. OECD Guideline 202.

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

## **VEDLEGG 3**

Toksisitetstest med fisk

# TEST RAPPORT

Norsk  
Institutt  
for  
Vannforskning

Postboks 69 Korsvoll  
0808 Oslo  
Tel: 22 18 51 00  
Fax: 22 18 52 00

## Akutt toksisitet - fisk *Salmo trutta*



**Teststoff:** Avløpsvann Borregaard Fine Chemicals,      **Lab. kode:** B201/1  
BFC 04/05/06/07 uke 33  
**Kunde:** Borregaard Fine Chemicals      **Prøve motatt** 28.08.95

### Testmetode

Testen er utført i overensstemmelse med "OECD Guidelines for testing of chemicals" (No. 203; Fish, acute toxicity test) og en noe modifisert Norsk Standard, NS 4717; "Bestemmelse av kjemiske produkters og avløpsvanns akutte toksisitet for ferskvannsfisk - semistatisk metode". Forholdet fiskvekt/vannvolum var innenfor grense angitt av OECD 203 (1.4 g/l).

### Testorganisme

Årsyngel (0+) av ørret (*Salmo trutta*), med middelvekt 1.2 g og middel lengde 1.2 cm. Med 7 fisk i hvert kar og 14 l testmedium gir dette en loading på 0.6 g fisk per liter. Fisken var hentet fra OFAs oppdrettsanlegg i Sørkedalen.

### Utførelse

Forsøket ble utført i glassakvarier med 14 l vann og 7 fisk i hver konsentrasjon av avløpsvann. Konsentrasjoner testet var 15 og 25 %, mengde avløpsvann tillot ikke testing av flere konsentrasjoner. Avløpsvannet ble fortynnet direkte i testkarene til de aktuelle konsentrasjoner. pH i avløpsvannet ble justert til pH 7.1 ved tilsetning av 1N HCl før fortynning. Testfiskene ble overført til ny løsning hvert døgn (semistatisk metode) og forsøket pågikk i 4 døgn. Karene ble luftet med luft fra akvariepumpe gjennom en sinterskive. Konsentrasjonen av løst oksygen ved vannskift var 100 % av metningskonsentrasjonen. Fisken ble observert hvert døgn og død fisk ble notert og fjernet. Vannkvaliteten i det benyttede fortynningsvannet fremgår av tabell 1. Vannet er et typisk norsk overflatevann, bløtt, svakt surt og med relativt lite innhold av løste organiske stoffer. For å opprettholde gassbalansen i løsningene ble benyttet en forsiktig innblåsing av luft. Temperaturen under forsøkene var i intervallet 10.3-11.4 °C.

Tabell 1. Noen kjemiske data for vann benyttet i test med ørret (Maridalsvann)

pH		6.7
Konduktivitet	mS/m 25 °C	2.94
TOC	mg/l	2.33
Ca	mg/l	2.57

## Resultater

I tabell 2 er oppført dødeligheten i hver konsentrasjon av avløpsvann. Med bare en død fisk ved høyeste konsentrasjon er det ikke mulig å beregne noen LC50 verdi (konsentrasjon hvor 50 % av fisken dør). Endret adferd ble observert ved 15 %. NOEC (no effect concentration) verdi er derfor 15 % i dette forsøket.

**LC50 etter 96 timer er >25 %**

**NOEC etter 96 timer er 15 %**

Tabell 2. Kumulativt antall (%) døde fisk ved forskjellig eksponeringstid. LC50 ved ulike tidspunkt angitt nederst i tabellen.

Konsentrasjon (%)	Timer			
	24	48	72	96
0	0	0	0	0
15	0	0	0	0
25	0	0*	0**	14**\$
LC50	>25 %	>25 %	>25 %	>25 %

\* fisk lettere nervøse \*\*fisk apatiske \$ en fisk viste tegn på ubalanse

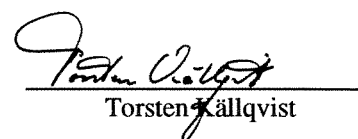
## Konklusjon

Avløpsvannet BCF 04/05/06/07 tatt i uke 33 ga ikke signifikant dødelighet ved konsentrasjoner inntil 25 %. Observasjon av toksiske effekter på adferd gir NOEC verdi lik 15 %.

Testen utført av:

  
Magne Grande

Testansvarlig:

  
Torsten Källqvist



## **VEDLEGG 4**

Bioakkumuleringspotensiale

Norsk  
Institutt  
for  
Vannforskning

P. Boks 173, Kjelsås  
0411 Oslo  
Tel: 22 18 51 00  
Fax: 22 18 52 00

# TEST RAPPORT



## Bioakkumulering OECD 117 HPLC Metode

Oppdragsgiver: Borregaard FC

Test komponent: Avløpsvann

Lab. kode: B201/1

Prøve mottatt: 280895 Lagrings betingelser: kjølerom (delprøve)

Test periode: 5. sept - 14. sept.

### Metode:

Testen ble utført etter OECD metode 117: "OECD guideline for testing of chemicals, Partition Coefficient (n-octanol/water), High Performance Liquid Chromatography Method."

### Test detaljer:

**Instrument:** Waters HPLC med en Waters 490 programmerbar multibølgelengde detektor  
**Kolonne:** BrownleeLabs, RP-18, Spheri 5, 5 µm, 4.6 x 220 mm  
**For kolonne:** RP-18  
**Væske hastighet:** 1 ml/min  
**Mobil fase:** MeOH/H<sub>2</sub>O, 70:30 (v/v)  
**Detektor**  
**bølgelengder:** Maxplot mode: UV 220, 254 og 278 nm  
**Injeksjons volum:** 25 µl  
**Konsentrasjon:** Referanse komponenter: ca 0.5 mg/ml mobil fase.

### Referanse komponenter:

Komponent:	Retensjons tid R <sub>t</sub>	log P <sub>ow</sub> (fra tabell)
Thiourea	2.38	
Benzylalkohol	3.00	1.1
Acetofenon	3.65	1.7
Anisol	4.98	2.1
Brombenzen	8.02	3.0
Etylbenzen	10.40	3.2
1,2,4-triklorbenzen	17.57	4.2
Fluoranten	28.98	4.7
Trifenylamin	43.35	5.7

Systemets doctid ble bestemt ut fra retensjonstiden til thiourea.

Regresjons linje:  $\log P_{ow} = 2.43 \log k + 2.25$

Test periode: 5. sept.- 14. sept.

Test substans: Avløpsvann

Lab. kode: B201/1

### Prøve opparbeiding:

Vannprøve, 500 ml, ble ekstrahert med cyclohexan/dietyler, 70:30 (v/v), 2 x 50 ml. Vannet ble deretter surgjort til pH < 2 med konsentrert svovelsyre, og ekstraksjonen ble gjentatt. Vannfasen ble deretter gjort basisk, pH > 12, med natrium hydroksid perler, og ekstraksjonen ble gjentatt. De kombinerte ekstraktene ble tørket over natriumsulfat. Ekstraktet ble dampet inn til ca. 0.2 ml. 2 ml metanol ble tilsatt, og volumet justert til ca. 1 ml. Ekstraktet ble analysert på HPLC.

### Resultat:

Ekstraktet ble injisert på HPLC. Kromatogrammet viste flere topper.

Retensjons tid (min)	Beregnet log P <sub>ow</sub>
2.12	-
2.33	-
2.75	0.3
3.13	1.0
37.33	5.1

### Konklusjon:

Log Pow = 3 tilsvarer en retensjonstid på 7.23 min beregnet ut i fra regresjons linja.

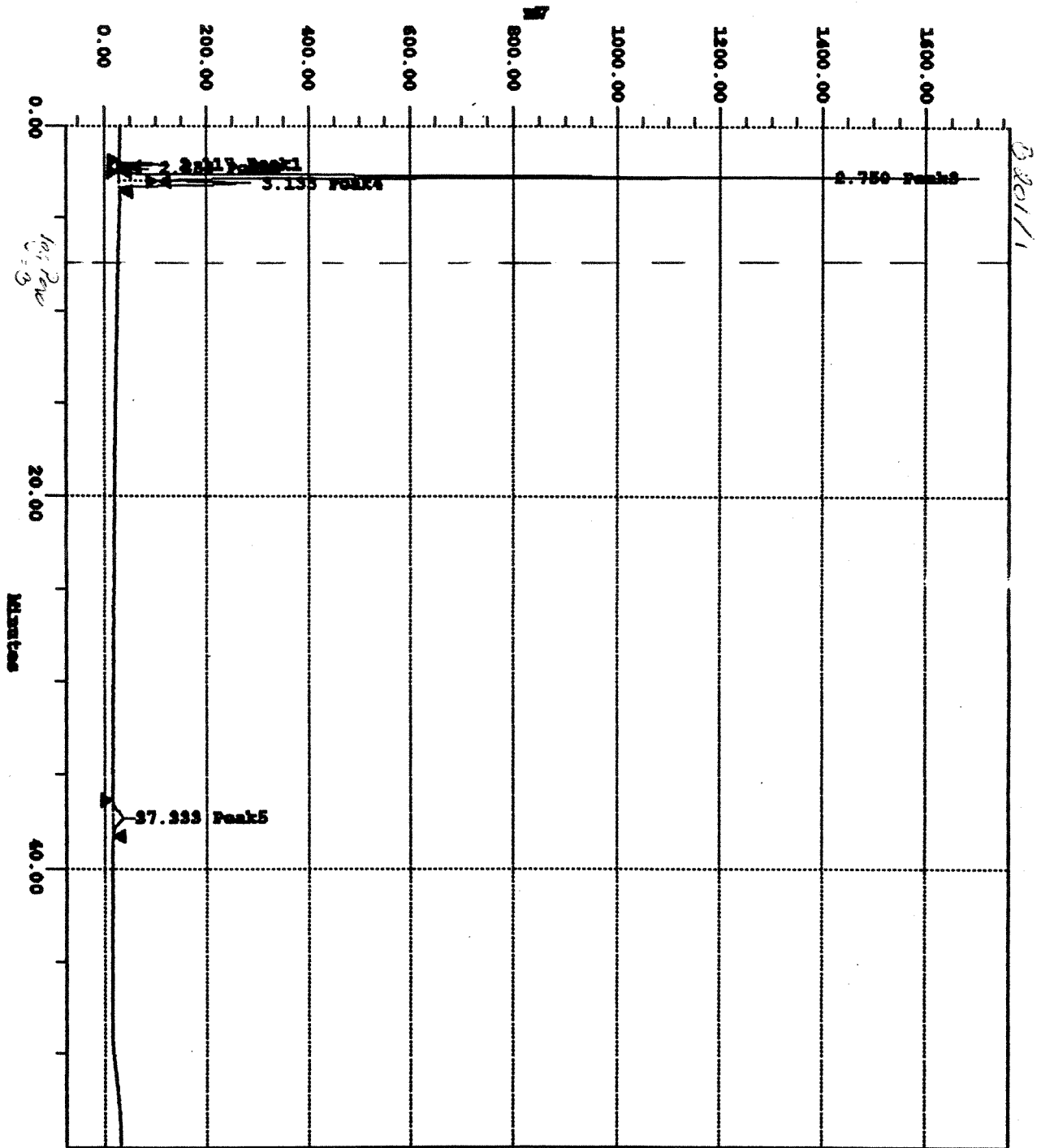
Komponenter med en retensjonstid over dette mistenkes å være potensielt bioakkumulerbare. En av de detekterte komponentene i denne prøven har en retensjonstid over denne verdien og dermed en log Pow verdi >3.

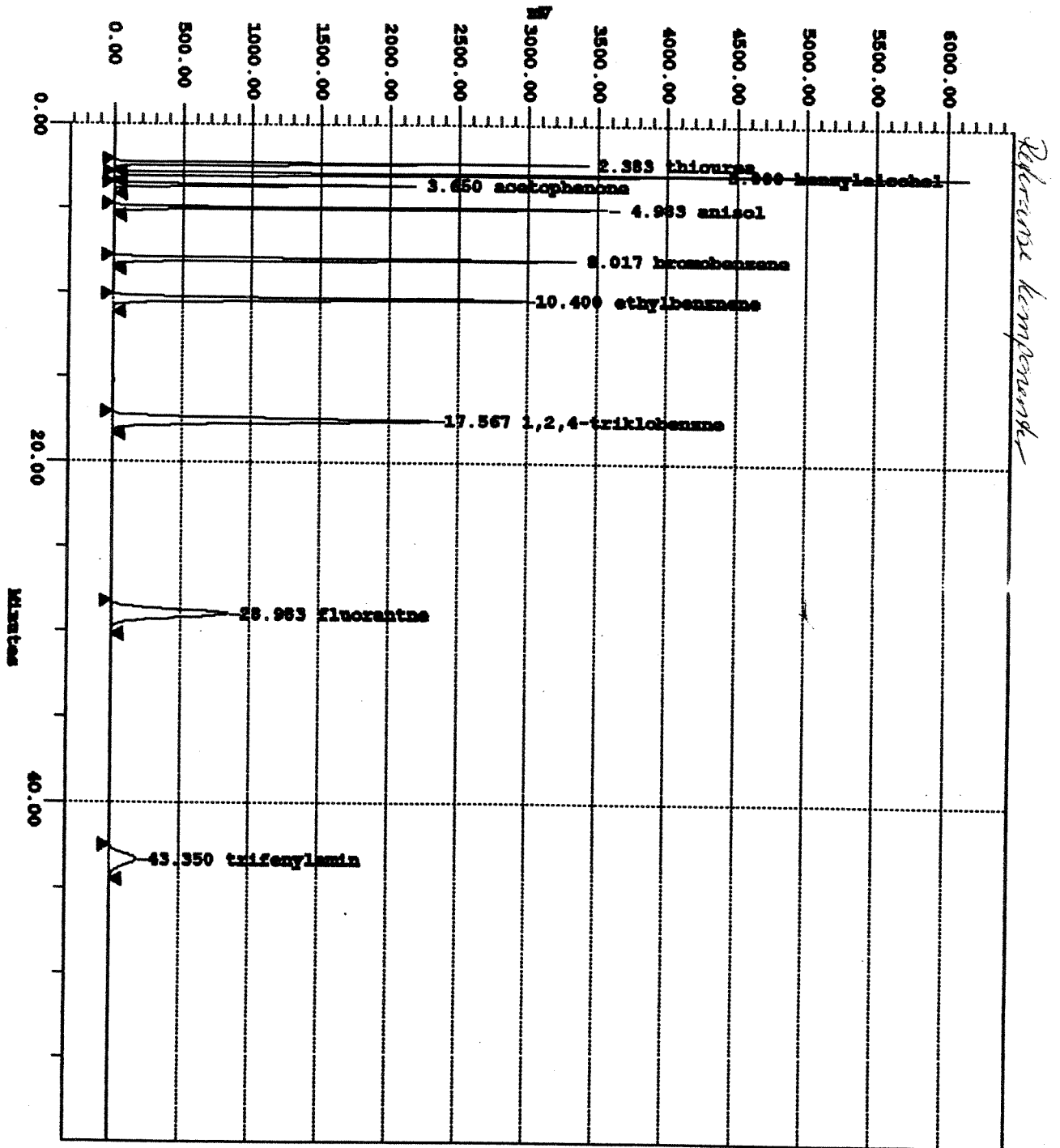
Vannprøven inneholder en detekterbar, potensielt bioakkumulerbar komponent.

NIVA  
131095

*Torgunn Sætre*  
Torgunn Sætre  
analytiker

*Einar M. Brevik*  
Einar M. Brevik  
gruppeleder





# **VEDLEGG 5**

Nedbrytbarhet

# TEST RAPPORT

Norsk  
Institutt  
for  
Vannforskning

Postboks 173 Kjelsås  
0411 Oslo  
Tel: 22 18 51 00  
Fax: 22 18 52 00

## Nedbrytbarhet OECD 301F



Kunde: Borregaard Fine Chemicals AS

Test produkt: Utslipp BFC 04/05/06/07/ uke 33-95

Lab. kode: B201/1

Prøve mottatt: 28. august 1995 Lagringsbetingelser: 2-4 °C

Test periode: 29. august til 26. september 1995.

### Testbetingelser:

Apparatur: Manometrisk respirometer, WTW 2001

Nærings-  
løsning: OECD 301 Standard mineralløsninger. Ammonia: 1.3 mg N/L i preparert testløsning.

Inokulum: Mikroorganismer fra laboratorieprodusert biologisk aktivt slam (Husmann unit) dyrket i OECD syntetisk kloakk, supplert med kommunalt kloakkvann dosert over 2 døgn før teststart. Slammet ble sentrifugert (2000 G i 10 min.) og resuspendert i BOD-råringssaltløsning for "utvasking" av løste stoffer. Denne prepareringen ble utført to ganger før slammet ble resuspendert til 4,45 g/L STS.

Inokulumkonsentrasjon i testmediet:  $1,3 \cdot 10^8$  CFU/L, 30 mg/L STS.

Inkubasjon: Temperatur:  $20 \pm 1$  °C. Varighet: 28 dager.

pH: Start 7,65 Slutt: 7,50

Referense: Anilin, 20 mg C/l.

Giftighets-  
kontroll: Anilin, 20 mg C/l + 1,00 % avløpsvann i testmedium

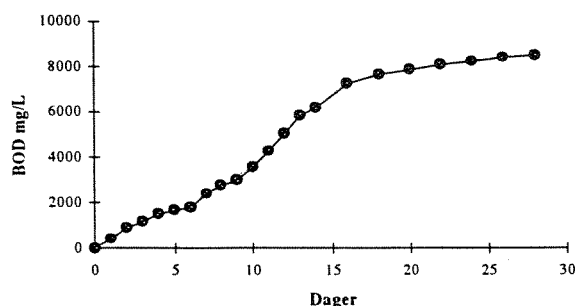
### Preparering av prøve:

Avløpsvannet ble testet ved 1,0 % konsentrasjon i 3 parallelle testflasker for bestemmelse av biokjemisk oksygenforbruk (BOD), og 2 for bestemmelse av løst organisk karbon (DOC).

### Resultater:

Teststoff	COD <sub>Cr</sub>	BOD <sub>28</sub>	DOC <sub>0</sub>	DOC <sub>28</sub>	DOC-red.
Utslipp, uke 33-95	10000 mg/l	8490 mg/l	3530 mg/l	900 mg/l	75 %

### BOD-kurve:



### Nedbrytningsgrad:

Reduksjon, DOC: 75 %

$$\frac{BOD \cdot 100}{COD} = 85 \%$$

Oslo, den 20. oktober 1995

Testet av: *Harry Efraimsson*  
Harry Efraimsson

Kvalitetsansvarlig: *Torsten Källqvist*  
Torsten Källqvist

Denne testrapport får kun kopieres i sin helhet og uten noen form for endringer.  
Testresultatet gjelder kun for den prøve som er testet.

## ANALYSER OG RESULTATER:

Test produkt: Utslipp BFC 04/05/06/07/ uke 33-95

Lab. kode: B201/1

Test periode: 29. august til 26. september 1995.

Kjemisk oksygenforbruk, (COD<sub>Cr</sub> fortynnet 1:50): 201 mg/l

DOC verdier, mg/l: Testkonsentrasjon: 1,00 %

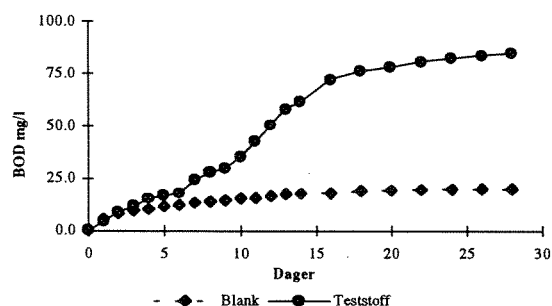
Medium	Flaske	Startverdi	28 døgn
Inokulum	C1	0.6	1.7
"	C2	0.7	1.3
"	Cmv.	<b>0.65</b>	<b>1.50</b>
Teststoff. (Fl. 6)	A1	36.1	10.5
" (Fl. 7)	A2	35.8	10.5
"	Amv.	<b>35.95</b>	<b>10.50</b>
Korrigert (A-C)		35.30	9.00
DOC-reduksjon etter 28 døgn nedbrytning (%)			<b>75</b>

## BOD-verdier i testløsningen for parallellprøvene:

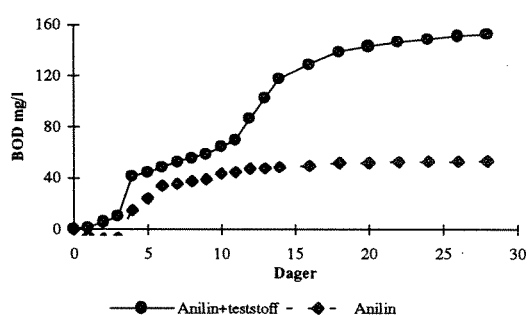
Antall døgn	5	7	14	21	28
BOD mg/l 1	16,5	24,2	74,5	80,5	83,9
BOD mg/l 2	17,1	23,9	48,9	80,8	85,8
BOD mg/l 3	17,2	24,9	53,1	82	84,3

Nedbrytninggrad for referanse (anilin) etter 14 døgn (BOD<sub>14</sub> · 100/ ThOD): = 79 %

Testprøve:



Toksisitetskontroll:



## Analytiske betingelser:

Biokjemisk oksygenforbruk i testløsningen er betemt med oksygen probe, (WTW OXI 2000) målt ved start og slutt. Utviklingen er så beregnet på basis av manometeravlesning under inkubasjonstiden. DOC ble analysert på Dohrmann DC-190, med høy temperatur (680 °C) og platina som katalysator. Kjemisk oksygenforbruk (COD<sub>Cr</sub>) er analysert etter NS 4748. NO<sub>3</sub>-N er analysert etter NS 4745 (Autoanalyser Method).

## REFERENSE:

1. OECD Guideline for testing of chemicals, 301F Manometric respirometry "Ready biodegradability". July 1992
2. NS-ISO 9408 EN 29408 Water Quality- Evaluation in a aqueous medium of the "ultimate" biodegradability of organic compounds- Method by determining the oxygen demand in closed respiromerter.



---

**NIVA**



**Norsk institutt for vannforskning**

Postboks 173 Kjelsås, 0411 Oslo

Telefon: 22 18 51 00 Fax: 22 18 52 00

ISBN 82-577-2765-2