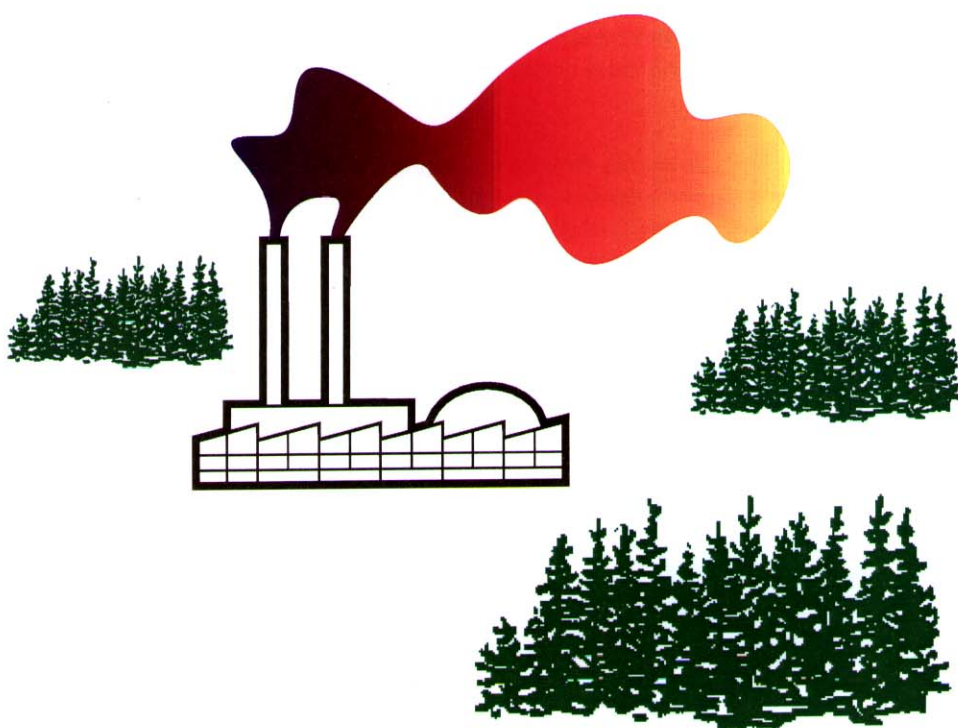


NIVA



RAPPORT LNR 3948-98

Økotoxikologisk  
karakterisering av  
avløpsvann fra  
tømmerrenseri ved  
Norske Skog, Follum  
fabrikker



**Hovedkontor**

Postboks 173, Kjelsås  
0411 Oslo  
Telefon (47) 22 18 51 00  
Telefax (47) 22 18 52 00  
Internet: www.niva.no

**Sørlandsavdelingen**

Televeien 1  
4890 Grimstad  
Telefon (47) 37 29 50 55  
Telefax (47) 37 04 45 13

**Østlandsavdelingen**

Sandvikaveien 41  
2312 Ottestad  
Telefon (47) 62 57 64 00  
Telefax (47) 62 57 66 53

**Vestlandsavdelingen**

Nordnesboder 5  
5008 Bergen  
Telefon (47) 55 30 22 50  
Telefax (47) 55 32 88 33

**Akvaplan-NIVA A/S**

9015 Tromsø  
Telefon (47) 77 68 52 80  
Telefax (47) 77 68 05 09

Tittel Økotoksikologisk karakterisering av avløpsvann fra tømmerrenseri ved Norske Skog, Follum fabrikker	Løpenr. (for bestilling) - 3948	Dato 13/11 1998
	Prosjektnr. Undernr. 98143	Pris 60
Forfatter(e)  Harry Efraimsen Torsten Källqvist	Fagområde Økotoksikologi	Distribusjon
	Geografisk område Buskerud	Trykket NIVA

Oppdragsgiver(e)  Norske Skogindustrier ASA Follum fabrikker 3501 HØNEFOSS	Oppdragsreferanse Astri Borch Due Anders M. Sørli
--	---

<p>Sammendrag</p> <p>Det er gjennomført en økotoksikologisk karakterisering av avløpsvann fra tømmerrenseri ved Norske Skog, Follum fabrikker ved Hønefoss. Karakteriseringen har omfattet kjemiske analyser og økotoksikologiske tester, nedbrytbarhet og bioakkumuleringspotensiale.</p> <p>Avløpsvannet inneholdt organisk materiale målt som kjemisk oksygenforbruk (450 mg/l) og total organisk karbon (160 mg/l) som er nedbrytbart. Innholdet av det oppløste organiske materialet (DOC) viser at 20.25 % av det organiske materialet er bundet til partikler eller fibre. Nedbrytbarhetstesting viste en DOC-reduksjon med ca. 32-35 % i løpet av 28 døgn, mens biokjemisk oksygenforbruk (BOD) som funksjon av kjemisk oksygenforbruk (COD) viste en nedbrytning på hele 77% i testperioden. Toksisitetstestene med alger, krepsdyr og fisk viste at avløpsvannet ikke er akutte giftig. En signifikant veksthemning ble kun påvist i toksitetstest med alger. Innholdet av bioakkumulerbare komponenter, uttrykt som komponenter med fordelingskoeffisient mellom oktanol og vann større enn 1000 (<math>\log P_{ow} &gt; 3</math>), er meget lavt og i betydelig grad bionedbrytbare.</p>
--

<p>Fire norske emneord</p> <ol style="list-style-type: none"> <li>1. Avløpsvann</li> <li>2. Treforedling</li> <li>3. Toksisitet</li> <li>4. Nedbrytbarhet</li> </ol>	<p>Fire engelske emneord</p> <ol style="list-style-type: none"> <li>1. Waste water</li> <li>2. Pulp and paper industry</li> <li>3. Toxicity</li> <li>4. Biodegation</li> </ol>
--	--

*Harry E. Efraimsen*  
Prosjektleder

ISBN 82-577-3553-1

*Reiner J. Lokenhales*  
Forskningsjef

**Økotoxikologisk karakterisering av avløpsvann  
fra rensenanlegget ved Norske Skog,  
Follum fabrikk**

## Forord

Follum fabrikk har etter pålegg fra SFT henvendt seg til NIVA for å få utført økotoksikologisk karakterisering av avløpsvannet fra renseanlegget. Et forslag til program for undersøkelsen ble utarbeidet av NIVA og oversendt 29 november 1997.

Prøvene ble tatt av bedriften i perioden 3.8. - 10.8. 1998, og mottatt NIVA den 10. 8. 1998. Karakteriseringen ble avsluttet i november 1998.

Oslo, 12 november 1998

*Harry R. Efraimsen*

---

# Innhold

Sammen drag	5
Summary	6
<b>1. PROGRAM FOR KARAKTERISERINGEN</b>	<b>7</b>
1.1 AVLØPSVANN	7
1.2 PRØVETAKING	7
1.3 KJEMISK KARAKTERISERING	7
1.4 TOKSISITETSTESTER	7
1.4.1 Ferskvannstester	7
1.5 NEDBRYTBARHETSTESTER	8
1.6 BIOAKKUMULERBARHET	9
<b>2. RESULTATER</b>	<b>9</b>
2.1 DØGNPRØVER	9
2.2 UKEBLANDPRØVE	10
2.2.1 Biologisk/kjemisk karakterisering	10
2.2.2 Nedbrytbarhet	10
2.2.3 Toksisitet	11
2.2.4 Bioakkumulering	12
<b>3. DISKUSJON</b>	<b>12</b>
<b>VEDLEGG 1</b> Toksisitetstest med alger	<b>14</b>
<b>VEDLEGG 2</b> Toksisitetstert med krepsdyr	<b>18</b>
<b>VEDLEGG 3</b> Toksisitetstest med fisk	<b>21</b>
<b>VEDLEGG 4</b> Nedbrytbarhetstester	<b>25</b>
<b>VEDLEGG 5</b> Bioakkumulering	<b>33</b>

## Sammendrag

Norske Skog, Follum fabrikk ved Hønefoss har samlet inn døgnproposjonale prøver av avløpsvann fra renseanlegget over en arbeidsuke (uke 32 1998). Døgnprøvene av avløpsvannet ble blandet til en ukeblandprøve og preparert for fysisk/kjemisk og økotoksikologisk karakterisering.

Toksisiteten ble undersøkt med bruk av ferskvannsorganismer (alger, krepsdyr og fisk). Biologisk nedbrytbarhet av organiske komponenter ble testet i henhold til OECD Guidelines 301 A og F. Innholdet av potensiell bioakkumulerbare komponenter (fordelingskoeffisient oktanol/vann,  $P_{ow}$ ) ble kvantifisert ved separasjon av lipofile fraksjoner ved bruk av tynnskikt-kromatografi.

Resultatene viser at avløpsvannet er lite giftig. Det ble ikke påvist akutte effekter på vannlopper eller fisk ved konsentrasjoner opp til 100 resp. 56%. En svak veksthemmende effekt på ble observert, men avløpsvannets farge kan ha bidratt til dette ved redusert lystilgang ved høye konsentrasjoner av avløpsvann.

Avløpsvannet inneholdt moderat mengde organisk materiale (TOC = 160 mg/l), hvor ca 20-25% var bundet til partikler. Nedbrytbarhetstestene viste at en delfraksjon er relativt lett nedbrytbart, mens hoveddelen av det organiske materialet brytes ned langsomt. Nedbrytbarhetstesting viste en DOC-reduksjon på ca. 32-35 % i løpet av 28 døgn, mens biokjemisk oksygenforbruk ( $BOD_{28}$ ) som funksjon av kjemisk oksygenforbruk ( $COD_{Cr}$ ) viste en nedbrytning på 77% i testperioden. Hovedårsaken til den store forskjellen antas å være utlekking av partikkelbundet organisk karbon, og at mikroorganismenes metabolske prosesser krever relativt mye oksygen under stoffomsetningen.

Innholdet av potensiell bioakkumulerbare stoffer (PBS) i avløpsvannet var svært lavt, og betydelig lavere enn de aksjonsgrenseverdier for avløpsvann som f. eks er praktisert av Naturvårdsverket i Sverige. Karakteriseringen før og etter bionedbrytning viste at 68 % av de PBS var eliminert etter 28 døgns nedbrytning.

## Summary

Effluent from a wastewater treatment plant at Norske Skog, Follum factories, was collected proportionally to the flow, and on a daily basis over one week. A composite sample was prepared for chemical and ecotoxicological characterisation. Toxicity was investigated using freshwater organisms (algae, crustacean and fish). The biodegradability of organic compounds was investigated according to OECD Guidelines 301 A and F. The content of potentially bioaccumulative components was quantified using separation of lipophilic fractions by thin layer chromatography.

The results show that the wastewater is not acute toxic against crustacean and fish, although a slightly but significant effect was observed on the alga *Selenastrum capricornutum*. Reduced light availability caused by the coloured wastewater may, however, have contributed to the growth reduction at high test concentrations.

The concentration of organic matter is moderate (TOC = 160 mg/l), with 20-25% associated to particles. The biodegradation tests showed that a minor portion of the organic content was readily biodegradable, but the main part was more resistant against biodegradation. The total removal of DOC during the 28 days biodegradation test was 32-35 %. The degradation expressed as the ratio between biochemical oxygen consumption ( $BOD_{28}$ ) and chemical oxygen demand ( $COD_{Cr}$ ) was 77 %. The discrepancy between the two estimates of degradation is explained by leakage of carbon from particles during incubation, and high metabolic respiration.

The content of potentially bioaccumulative components was very low and was eliminated by 68 % in the course of 28 days biodegradation.

Title: Ecotoxicological characterisation of waste water from Norske Skog, Follum.

Year: 1998

Author: Harry Efraimssen and Torsten Källqvist

Source: Norwegian Institute for Water Research, ISBN No.: ISBN 82-577-3553-1

# 1. PROGRAM FOR KARAKTERISERINGEN

## 1.1 AVLØPSVANN

Avløpsvann fra rensenanlegget ble tatt ut som døgnpøver og 25 liter delprøve ble tatt ut. Delprøvene ble oppbevart frosset eller lagret kjølig for å få minst mulig endring i fysisk-kjemisk og biokjemisk kvalitet før karakteriseringen.

Prøvetakingen og behandlingen av prøvene ble utført av bedriften.

## 1.2 PRØVETAKING

Avløpsvann ble tatt ut som mengdeproposjonale døgnpøver (fra kl. 07 til 07 neste dag) i perioden 3.8 til 7.8 og frosset. I perioden 7.8. til 10.8 (over helgen) ble det tatt ut vann til to kanner a. 25 liter (plastkanner). Prøvene ble transportert til NIVA 10.8, og blandet proposjonalt med vannmenden ut fra rensenanlegget for hele ukeperioden.

Delprøver av den homogeniserte blandprøven ble tatt ut for økotoksikologisk karakterisering. Delprøver som ikke kunne startes den påfølgende dag ble frosset i påvente av testing. Døgnpøvene ble analysert med hensyn til pH og kjemisk oksygenforbruk ( $COD_{Cr}$ ) av NIVA.

## 1.3 KJEMISK KARAKTERISERING

Den kjemiske karakteriseringen av avløpsvannet (ukeblandprøve) omfattet:

- pH-verdi
- konduktivitet
- kjemisk oksygenforbruk
- biokjemisk oksygenforbruk ( $COD_{Cr}$ )
- totalt organisk karbon (TOC)
- suspendert materiale
- total nitrogen
- total fosfor

## 1.4 TOKSISITETSTESTER

Ved undersøkelse av avløpsvannenes toksisitet ble det benyttet ferskvannsorganismer.

### 1.4.1 Ferskvannstester

Toksisitetstesten med ferskvannsalger ble utført i henhold til OECD Guideline 201 og ISO/DIS 8692 "Algal growth inhibition test", med *Selenastrum capricornutum* som testorganisme. En konsentrasjonsserie av prøven i et algevekstmedium ble podet med aktivt voksende testalger fra en stamkultur og inkubert under standard betingelser på et gyngebord med kontinuerlig belysning (ca.  $80 \mu E m^{-2} s^{-1}$ ) og ved temperaturen  $20 ^\circ C$ .

Veksten i kulturene ble fulgt ved telling av algeceller etter 24, 48 og 72 timer. Fra vekstkurvene kan man se om veksten har vært hemmet i forhold til kontrollkulturene under noen del



av eksponeringstiden. Algenes veksthastighet ble beregnet fra økningen i antall celler fra start til slutt (3 døgn). Veksthastighetene ved ulike konsentrasjoner av avløpsvannet ble tegnet opp i et konsentrasjon/responsdiagram. Fra dette ble  $EC_{50}$ -verdien bestemt ved probit-analyse.

Giftighetstesten med vannlopper (*Daphnia magna*) ble gjort i henhold til OECD Guideline 202 og ISO 6341 "Determination of the inhibition of the motility of *Daphnia magna*". Forsøksdyr som er mindre enn 24 timer gamle ble eksponert i en fortyningsserie av avløpsvannet. Det ble benyttet fire enheter med 5-7 dyr for hver konsentrasjon.

Testen ble utført ved 20 °C. Etter 24 og 48 timer ble antall dyr som var døde, eller som ikke var i stand til å bevege seg registrert.  $EC_{50}$ -verdien for immobilisering ble bestemt fra konsentrasjon/responskurven.

Giftighetstesten med fisk ble utført i overensstemmelse med OECD Guideline 201: "Fish acute toxicity test" og en norsk standard (NS 4717), med årsyngel av ørret (*Salmo trutta*) som testorganisme. Dødeligheten av fisken ble undersøkt over 4 døgn i ulike konsentrasjoner av prøven. Fiskene ble overført til ny testløsning hvert døgn (semistatisk metode).  $LC_{50}$ -verdien avleses fra konsentrasjon/responskurven.

## 1.5 NEDBRYTBARHETSTESTER

Ved nedbrytbarhetstester undersøkes den mikrobielle nedbrytningen av organiske forbindelser. Testene utføres i aerobt miljø, d.v.s. med oksygen tilstede, og gir indikasjoner på om avløpsvannet inneholder stabile organiske forbindelser som ikke brytes ned i miljøet.

Nedbrytbarhetstesten ble utført med en respirometrisk metode (OECD 301 F), hvor oksygenforbruket ved nedbrytning blir registrert over en 28 døgns periode ved temperaturen 20 °C. I tillegg ble konsentrasjonen av løst organisk karbon (DOC) målt ved begynnelsen og slutten av testen.

Avløpsvannet ble fortynnet til 1:10 med fortyningsmedium for å få en konsentrasjon av organisk karbon som er egnet for metoden. Uorganiske næringsalter ble tilsatt og prøven inokulert med mikroorganismer fra et laboratorie-aktivt slamanlegg. Prøvene ble inkubert i lukkede, mørke flasker som var tilkoblet manometre. Karbondioksyd, produsert ved nedbrytningen ble absorbert i lut i en beholder inne i flasken. Utviklingen i oksygenforbruket ble lest av fortløpende på manometrene.

Ved nedbrytbarhetstester av enkeltkemikalier er det vanlig å bruke DOC-reduksjon større enn 70% etter 28 døgn som kriterium for "lett nedbrytbar". For avløpsvann, som inneholder en blanding av stoffer er denne grenseverdi ikke uten videre anvendelig. Det kan også være behov for å undersøke hvilke stoffer (eller egenskaper) som er igjen etter nedbrytningen. Dette ble gjort ved å gjenta deler av karakteriseringen (kjemiske analyser, algetoksisitet og bioakkumulerbarhet) på vann som hadde gjennomgått nedbrytbarhetstest.

For å få nok vann til karakteriseringen etter nedbrytning ble det parallelt med respirometer-testen satt opp en nedbrytbarhetstest (OECD 301 A: Die-Away test) med større volum. Avløpsvannet til denne nedbrytbarhetstesten ble fortynnet til 1:3 konsentrasjon av avløpsvann. For karakterisering av stoffer etter nedbrytning er det fordelaktig med en lavest mulig fortyning av testprøven slik at analysenøyaktigheten blir så høy som mulig, men at giftvirkning ikke oppstår under nedbrytningen. Forbehandling, inokulering og inkubering ble foretatt på

samme måte som for respirometertesten. Nedbrytningen av organisk materiale ble fulgt ved DOC-analyser.

## 1.6 BIOAKKUMULERBARHET

Kjemikaliers tendens til å oppkonsentreres eller akkumuleres i levende organismer kan undersøkes med s.k. bioakkumulerbarhetstester, hvor f. eks. fisk eksponeres til lave konsentrasjoner over lang tid og konsentrasjonsøkningen av kjemikaliet i fiskekjøttet undersøkes ved analyser. P.g.a. at bioakkumulerbarheten av organiske stoffer mest beror på stoffets fettløselighet (lipofilitet) har man imidlertid utviklet screening-metoder for undersøkelse av potensiell bioakkumulerbarhet, som er basert på måling av fasefordelingen mellom oktanol og vann,  $P_{ow}$ . Til dette brukes kromatografiske metoder (tynnsjikt-kromatografi eller HPLC).

Screeningmetodene for potensiell bioakkumulerbarhet kan også brukes for karakterisering av avløpsvann, ved at mengden organisk stoff i ulike  $P_{ow}$ -intervaller blir bestemt. Som potensielt bioakkumulerbart regnes stoffer med  $P_{ow} > 1000$  ( $\log P_{ow} > 3$ ).

## 2. RESULTATER

Testrapporter for tester av nedbrytbarhet, toksisitet og bioakkumuleringspotensiale finnes i vedlegg A. En sammenstilling av resultatene er gjort nedenfor.

### 2.1 DØGNPRØVER

Resultatene av analysene av døgnprøver er vist i tabell 1.

Tabell 1. Målt vannføring på prøvestedene og resultater av analyser av døgnprøver.

Dato	Avløpsvann fra tømmerrenseri		
	m <sup>3</sup> /døgn	pH	KOF (mg O/L)
03.08.98	26,0	7,36	510
04.08.98	24,3	7,48	497
05.08.98	24,9	7,36	410
06.08.98	23,0	7,40	418
07.-10.98	24,2	7,45	440
Middelverdi	24,4		

Analysene på de enkelte døgnprøver viser at avløpsvannets kvalitet er relativt stabilt med hensyn til surhetsgrad og innhold av organisk materiale.

## 2.2 UKEBLANDPRØVE

### 2.2.1 Biologisk/kjemisk karakterisering

Resultatet av den kjemiske karakteriseringen av avløpsvannet er vist i tabell 2. Innholdet av næringssalter er relativt lavt. Konduktiviteten tilsvarer et saltinnhold på ca 700 mg/l. Innholdet av suspendert materiale er forholdsvis lavt. Analysen er utført i henhold til NS 4733 som definerer bruk av filter av glassfiber for STS-bestemmelsen. Filterne holder tilbake 98% av partikler større enn 0,001mm. Analysene av organisk karbon viser en differanse på 27 mg/l mellom totalt (TOC) og løst (DOC) karbon. Denne forskjellen utgjøres av partikkelbundet karbon og indikerer at STS bør være 45-50 mg/l. Differansen kan forklares med at det ved DOC-bestemmelsen benyttes membranfiltre med en porestørrelse på 0,45 µm, og at små partikler (0,45 til 1,0 µm) utgjør ca. halvparten av det partikkelbundete karbon i vannet.

Innholdet av løst organisk stoff (DOC) samsvarer godt med den analyserte verdi for kjemisk oksygenforbruk (COD). Dette indikerer at en fraksjon (ca.20-25 %) av det organiske materialet er tungt oksiderbart, som bekreftes ved den analyserte TOC-verdi for avløpsvannet.

**Tabell 2.** Kjemiske analyser av blandprøver av avløpsvannet

Analysevariabel	Enhet	Blandprøve
pH		7,67
Konduktivitet	mS/m	115
Suspendert tørrstoff	mg/l	25
Kjemisk oksygenforbruk (COD <sub>Cr</sub> )	mg O/l	451
Totalt organisk karbon (TOC)	mg/l	160
Løst organisk karbon (DOC)	mg/l	133
Totalt nitrogen (Tot. N)	µg/l	180
Totalt fosfor (Tot. P)	mg/l	0,5

### 2.2.2 Nedbrytbarhet

Resultatene fra hovedtesten for bestemmelse av nedbrytbarhet (OECD 301 F) er vist i tabell 3.

**Tabell 3.** Resultater av biokjemisk nedbrytning av organiske stoffer i avløpsvannet.

Parameter	BOD <sub>28</sub> mg/l	COD <sub>Cr</sub> mg/l	DOC <sub>0</sub> mg/l	DOC <sub>28</sub> mg/l	DOC- fjerning
Beregnet i avløpsv.	352	454	133	90	32 %

Nedbrytbarhetstestene viste et relativt raskt oksygenforbruk innledningsvis med et BOD<sub>7</sub>/COD forhold på ca.50%. (Se fig. 2).

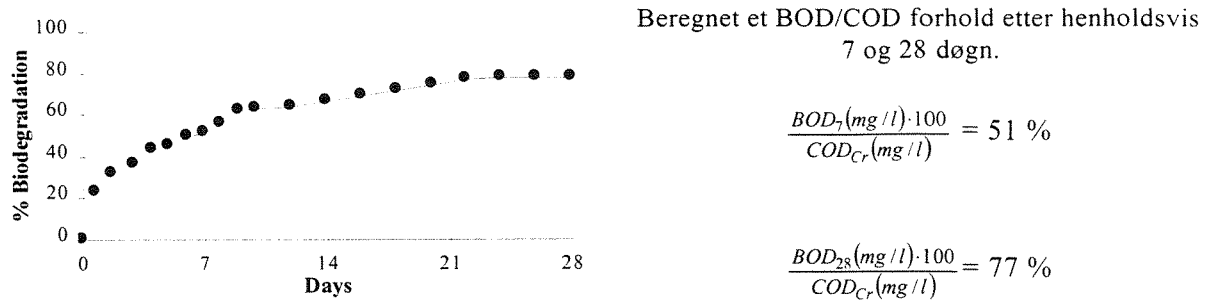


Fig. 1. Bionedbryningskurve for organisk stoff i avløpsvannet, basert på måling av biokjemisk oksygenforbruk som funksjon av kjemisk oksygenforbruk ( $BOD/COD_{Cr}$ )

BOD-verdiene i prosent av kjemisk oksygenforbruk (COD) og reduksjonen i avløpsvannets innhold av oppløst organisk karbon (DOC) etter 28 døgns nedbrytning, viser graden av nedbrytning av organisk stoff. Det ble oppnådd en nedbrytning på 77 % målt som  $BOD_{28}/COD$  forhold, mens DOC-reduksjon for samme testperiode var på henholdsvis 32 og 35% i to separate tester (OECD 301 F og 301 A).

Forklaringen til dette kan være at det for det første kreves mye oksygen under katabolismen for at mikroorganismene kan nyttiggjøre seg av de organiske stoffene til anabolismen. Under nedbrytningsprosessen kan det i tillegg frigis partikkelbundet organisk materiale som påvirker DOC-konsentrasjonen ved testslutt, eller at det også er løste organiske stoffer i vannet som i liten grad påvirkes av nedbrytning under testperioden. Det er normalt at prosentvis DOC-reduksjon er lavere enn  $BOD_{28}/COD$  forholdet, men for dette avløpsvannet var forskjellen stor.

OECD 301 A testen som ble benyttet for å få tilstrekkelig mengde nedbrutt vann til analyse av bioakkumulerbare stoffer etter 28 døgn bionedbrytning, viste en DOC-reduksjon som var tilnærmet identisk (35 %) med det som ble oppnådd for hovedtesten for bestemmelse av nedbrytbarhet (OECD 301 F).

### 2.2.3 Toksisitet

Resultatene av toksisitetstestene er sammenfattet i tabell 5.

Tabell 4. Resultater av toksisitetstester for de to avløpsvann.

Organismer	Responsparemeter		Avløpsvann	
			Før nedbr.	Etter nedbr.
Sel.capricornutum	veksthastighet	$EC_{50}$	> 100 %	Ikke utført
Daphnia magna	immobilisering	$EC_{50}$	> 100 %	-
Ørret	dødelighet	$LC_{50}$	> 56 %	-

Resultatene av toksisitetstestene viser at avløpsvannet ikke kan betraktes som giftig overfor de testede organismene. Det ble påvist signifikant veksthemming ( $EC_{10}$ ) av algen *Selenastrum capricornutum* ved 38% avløpsvann, og ved 90% konsentrasjon var veksthemmingen ca. 40%.

Avløpsvannets farge kan imidlertid ha bidratt til veksthemmingen ved å redusere algenes tilgang til lys for fotosyntesen. For vannloppen *Daphnia magna* ble det ikke påvist noen dødelighet eller immobilisering, selv i ufortynnet avløpsvann.

Fisketesten ble utført med 56 % avløpsvann som høyeste konsentrasjon. Det ble ikke påvist dødelighet i denne testen.

### 2.2.4 Bioakkumulering

Resultatene fra de tynnsjikt-kromatografiske testene av potensielt bioakkumulerbare stoffer (PBS) i avløpsvannet før og etter nedbrytning er vist i tabell 5. Verdiene er korrigert for den fortynningsfaktor som ble benyttet ved nedbrytningstesting.

Gasskromatograf-analysen er semikvantitativ fordi responsen på den benyttede flammeionisasjonsdetektor kan variere mellom ulike organiske forbindelser. De oppgitte konsentrasjoner er derfor approksimative.

**Tabell 5.** Konsentrasjonen av PBS i prøvene før og etter 28 døgns bionedbrytning.

Prøve	Kons. før TLC fraksjonering µg/l	Kons.fraksjon 1 ved applikasjon sone TLC µg/l	Kons.fraksjon 2 Log P <sub>OW</sub> >5,7 µg/l	Kons.fraksjon 3 3,88 <Log P <sub>OW</sub> <5,7 µg/l	Kons. fram. 4 Log P <sub>OW</sub> <3,88 µg/l
B343					
Før nedbrytning	30	2,7	14	6,0	13
Etter nedbrytning	20	ikke detektert	7,2	ikke detektert	0,6

I avløpsvannet før nedbrytning ble det funnet PBS i det bioakkumulerbare området beregnet til 16,7 µg/l for log P<sub>OW</sub> > 5,7 (applikasjonen + fraksjon 2) og 6,0 µg/l for 3,88 <log P<sub>OW</sub> <5,7 (fraksjon 3). Etter nedbrytning er verdiene i de samme fraksjonene henholdsvis 7,2 og ikke detekterbar. For PBS med log P<sub>OW</sub> > 3,88 ble det oppnådd en eliminering på 68 % under nedbrytningen.

De verdier som ble funnet i dette avløpsvannet er vesentlig lavere enn den aksjonsgrense som Naturvårdsverket i Sverige praktiserer ved vurdering av utslippsbegrensninger (0,5 mg/l).

Naturvårdsverkets aksjonsgrense for PBS i vann etter nedbrytning (0,1 mg/l) er ca 13 ganger høyere enn det som ble påvist i dette avløpsvannet etter nedbrytning. PBS i dette avløpsvannet er meget lav, og i vesentlig grad bionedbrytbart.

## 3. DISKUSJON

Karakteriseringen viser at avløpsvann fra rensenanlegget ved Norske Skog, Follum fabrikk inneholder organisk materiale hvor en del fraksjon nedbrytes relativt raskt, mens det resterende er stoffer som er tyngre biologisk nedbrytbare, som resultatet av nedbrytbarhetstesten viser.

Avløpsvannet er lite eller ikke akutt giftig overfor de testorganismer som ble benyttet ved denne karakteriseringen. På bakgrunn av denne observasjonen ble det besluttet at testing for akutt toksisitet etter bionedbrytning ikke hadde noen hensikt, og ble derfor sløyet.

Det er foretatt en beregning av utslipp av suspendert materiale, organisk stoff, og næringsstoffene nitrogen og fosfor basert på de utslippmengder som er oppgitt fra bedriften.

m <sup>3</sup> /døgn	STS	COD <sub>Cr</sub>	TOC	Nitrogen	Fosfor
24,4	0,61 kg	11 kg	3,9 kg	4,4 g	12,2 g

Avløpsvannets totale potensiale for å gi skadevirkninger i resipienten er en funksjon av toksisitet og utslippmengde. Som et uttrykk for dette brukes betegnelsen "Toxicity emission factor, TEF". For å beregne TEF konverteres først E(L)C<sub>50</sub>-verdiene til en enhet hvor verdien er proporsjonal med toksisiteten. Denne enheten betegnes "Toxical units, TU og beregnes:

$$TU = 100/E(L)C_{50} \quad \text{hvor } E(L)C_{50} \text{ er oppgitt som vol. \% av avløpsvann.}$$

TEF-verdien beregnes så i henhold til:

$$TEF = TU * Q \quad \text{hvor } Q \text{ er utslippmengde angitt som m}^3/\text{time}$$

TEF-verdien er egnet for vurdering av ulike utslipps betydning i en resipient eller for sammenligning av utslipp fra ulike fabrikker innen en industrikategori. På grunn av det ikke ble påvist 50 % effekt på noen av testorganismene ved de høyeste konsentrasjoner som ble undersøkt kan eksakte EC<sub>50</sub> eller LC<sub>50</sub>-verdier bare angis som "større enn høyeste testkonsentrasjon", dvs. >56% for fisk og >100% for alger og dafnier. Tilsvarende kan TEF bare beregnes som en maksimumsverdi som vist i tabell 7.

**Tabell 7.** Beregnede TEF-verdi for avløpsvannet.

Avløpsvann	Organisme	TU	Q (m <sup>3</sup> /time)	TEF
Ukeblandprøve	Ørret	<1,8	1,01	<1,82

## VEDLEGG 1

### Toksisitetstester med alger

# TESTRAPPORT

## Alger, veksthemmingstest

### *Selenastrum capricornutum*

NIVA metode K4

**Teststoff:** Blandprøve 3-10.8.98  
**Kunde:** Norske skog, Follum  
**Adresse:** Postboks 220,  
3501 Hønefoss

**Lab. kode:** B343  
**Prøve mottatt:** 10.08-98

**Testmetode:** ISO 8692: Alga growth inhibition test  
**Organisme:** *Selenastrum capricornutum* NIVA CHL1  
**Testparameter:** Veksthastighet fra start til 72 timer  
**Stamkultur:** Semi-kontinuerlig i 10% Z8 vekstmedium (Staub 1961)  
**Start dato:** 18.08.98  
**Forbehandling av prøve:** Prøven ble frosset ned ved mottak og tint i kjøleskap før teststart  
**Konsentrasjoner:** 10, 18, 32, 56, 90 %  
**Test medium:** ISO 8692  
**Inkuberingsutstyr:** Gyngebord  
**Dyrkingsflasker:** 100 ml ståkolber med 50 ml medium  
**Lys:** Ca. 75 mE m<sup>2</sup> s<sup>-1</sup>, kontinuerlig fra dagslys-type lysstoffrør  
**Temperatur:** 20.7 – 21.2 °C  
**pH i kontroll** Start : 7.6 Slutt: 8.0  
**pH i høyeste konsentrasjon** Start : 8.3 Slutt: 8.8  
**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 (p < 0.01)

**Resultater:** Celletetthet på hvert målepunkt, det beregnede areal under vekstkurve og veksthastighet i hver kolbe er vist på vedlagt skjema. Middelerverdier 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	%	> 100	-	38	33 - 43	32

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

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



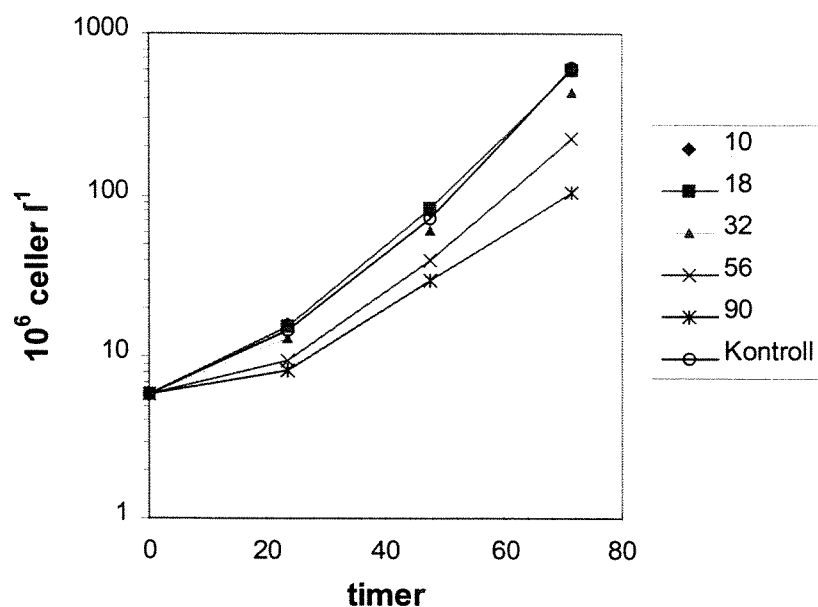


Fig. 1. Vekstkurver for *Selenastrum capricornutum* i ulike konsentrasjoner av blandprøve 3-10.8.98

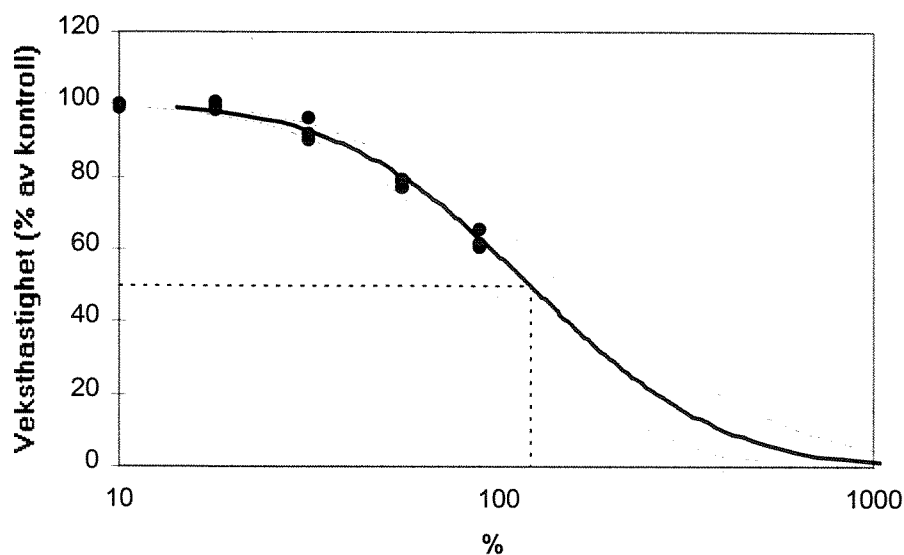
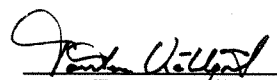


Fig. 2. Effekt av blandprøve 3-10.8.98 på veksthastigheten til *Selenastrum capricornutum*.

Utført av: Randi Romstad Testansvarlig:

  
Torsten Källqvist

Oslo 5.10.98

### 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: K4  
 TESTSTOFF: Blandprøve 3-10.8  
 TESTALGE: *Selenastrum capricornutum*  
 INOKULUM: 5,8 mill. celler/l

Dato: 18.8.98  
 Lab. kode: B343  
 Medium: ISO

	Timer:	Dag 1	Dag 2	Dag 3	Areal	Areal%	V.hast.	V.hast. %
Kons.	%	23,5 mill/l	47,5 mill/l	71,5 mill./l				
10	"	16	78	580	8865	97	1,55	99
10	"	16	83	614	9393	103	1,56	100
10	"	16	82	599	9189	101	1,56	100
18	"	16	79	564	8697	95	1,54	98
18	"	15	82	597	9142	100	1,56	100
18	"	15	89	627	9670	106	1,57	101
32	"	13	59	390	6058	66	1,41	90
32	"	13	61	414	6394	70	1,43	92
32	"	13	62	509	7558	83	1,50	96
56	"	10	40	212	3395	37	1,21	77
56	"	9	40	224	3522	39	1,23	78
56	"	10	40	235	3659	40	1,24	80
90	"	8,1	28	97	1682	18	0,95	61
90	"	7,7	31	101	1792	20	0,96	61
90	"	8,7	31	121	2056	23	1,02	65
Kontroll		18	82	756	11121	122	1,63	105
		12	63	514	7618	84	1,51	96
		13	70	591	8734	96	1,55	99
		15	72	588	8794	96	1,55	99
		15	73	596	8914	98	1,55	100
		15	79	638	9562	105	1,58	101

#### MIDDELVERDIER

%

10,00 Mv:		16,00	81,00	597,67	9149	100,28	1,56	99,57
St. d.		0,00	2,16	13,91	217	2,38	0,01	0,50
18,00 Mv.		15,33	83,33	596,00	9170	100,50	1,55	99,49
St. d.		0,47	4,19	25,73	397	4,36	0,01	0,93
32,00 Mv.		13,00	60,67	437,67	6670	73,11	1,45	92,74
St. d.		0,00	1,25	51,38	643	7,04	0,04	2,45
56,00 Mv.		9,60	40,00	223,67	3525	38,64	1,23	78,44
St. d.		0,29	0,00	9,39	108	1,18	0,01	0,90
90,00 Mv.		8,17	30,00	106,33	1843	20,20	0,97	62,38
St. d.		0,41	1,41	10,50	157	1,72	0,03	2,06
Kontroll	Mv.	14,67	73,17	613,83	9124	100,00	1,56	100,00
	St. d.	1,89	6,15	73,34	1061	11,63	0,04	2,48
	Variasjonskoeffisient i kontroller (%):				11,63		2,48	

## VEDLEGG 2

### Toksisitetstester med dafnier

**Teststoff:** Blandprøve 3 – 10.8.98  
**Kunde:** Norske skog, Follum  
**Adresse:** Postboks 220,  
3501 Hønefoss

**Lab. kode:** B343  
**Prøve mottatt:** 10.08.98

**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. Vedlikeholdt i Elendt M7 og foret med *Selenastrum capricornutum* som er dyrket i 10% Z8 nærings saltløsning. Alder ved teststart < 24 timer.

**Testperiode** 18.08 – 20.09.98

**Forbehandling av prøve** Blandprøven som ble oppbevart frosset ble tint over natten i kjøleskap før teststart.

**Fortynningsmedium** ISO

**Testkonsentrasjoner** 32, 56, 100 %

**Antall enheter** 4 kar for hver konsentrasjon, med 5-7 dyr pr. kar.

**Testbeholdere** 50 ml polystyren begere med ca. 40 ml medium

**Temperatur** 19.5 – 19.7 °C

**pH i kontroll** Start: 7.8 Slutt: 7.9

**pH i høyeste kons.** Start: 8.0 Slutt: 8.1

**Oksygenmetning, 48 t** Kontroll: 8.53 ppm kons.: 8.26 ppm

**Beregning av EC<sub>50</sub> \***

Referansestoff: Kaliumdikromat: 24t EC<sub>50</sub> = 1.37 mg/l

### Resultater:

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	%	> 100	-	> 100	> 100	-	> 100

**Kommentarer:** det ble ikke registrert noen effekt av avløpsvannet på forsøksdyrene.


\*EC<sub>50</sub> = Den konsentrasjon som gir 50% immobilisering av forsøksdyrene.

Konsentrasjon	Antall dyr	Immobiliserte 24 tim.	Immobiliserte 48 tim.
32 %	20	0	0
56 %	20	0	0
100 %	22	0	0
kontroll	21	0	0

Observert immobiliserte *Daphnia magna* etter 24 og 48 timer i kontroller og ulike konsentrasjoner av blandprøve 3-10.8.98.

Oslo, 20.8.98

Utført av: Randi Romstad      Testansvarlig:



Torsten Källqvist

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, 21, 257 - 265.

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

Elendt, B.-P. 1990, *Selenium deficiency in Crustacea: An ultrastructural approach to antennal damage in Daphnia magna Strauss*. Protoplasma, 154, 25-33.

## VEDLEGG 3

### Toksisitetstester med fisk

# TESTRAPPORT

## Akutt toksisitet - fisk

### *Salmo trutta*

NIVA metode K15

**Teststoff:** Blandprøve 3 – 10.08.98  
**Kunde:** Norske Skog, Follum  
Postboks 220  
3501 Hønefoss

**Lab. kode:** B343  
**Motatt:** 10.08.99

#### 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 fiskevekt/vannvolum var (0,86 g/l) i overensstemmelse med fiskebelastning på <1.0 g/l anbefalt i OECD 203.

#### Testorganisme

Årsyngel (0+) av ørret (*Salmo trutta*), med middelvekt 1,7 g og middellengde 5,6 cm. Fisken var hentet fra OFAs oppdrettsanlegg i Sørkedalen 2 uker før testoppstart. Fisk ble ikke foret innen 1 døgn før teststart. Testen ble utført som en "limit test" både fordi man antok at avløpsvannet var lite giftig og fordi det var knapt med testmateriale.

#### Test detaljer

Test organisme: Bekkeørret (*Salmo trutta*)  
Test parameter: Mortalitet observert hver dag i 4 dager.  
Opprinnelse av fisk: Oslo Fiskeadministrasjon Oppdrettsanlegg i Sørkedalen  
Inntak av fisk: Fisk ankom NIVA 21 september 1998  
Dato for oppstart: 6 oktober 1998  
Test konsentrasjoner: 56 % løsning av "Blandprøve 3 – Norske Skog"  
Tillagning av løsninger: Test avløpsvannet ble målt opp i målesylindere og fortynnet i målekolbe  
Test Medium: Fortynningsvann fra Maridalsvannet.  
Test system: 36 l glass akvarier fylt med 20 l testløsning

#### Test betingelser

Lys: 16 timer lys 8 timer mørke  
Temperatur: Målt daglig i kontroll akvariet. Maksimum temperatur var 13,3 °C og minimum var 12,4 °C.  
pH: Målt før og etter vannskift hver dag. Kontroll start 6,5, slutt 6,6, Høyeste konsentrasjon start 7,8 slutt 8,2  
Oksygen: Ikke målt men antatt å være ~100 % fordi alle kar ble luftet kontinuerlig.  
Beregning av LC50: Kumulativ prosent mortalitet er plottet mot logaritmen til konsentrasjonen. LC50 er grafisk bestemt.  
NOEC: Høyeste konsentrasjon uten toksiske effekter.

## Utførelse

Forsøket ble utført i glassakvarier med 20 l vann og 10 fisk i hver konsentrasjon av avløpsvann. Konsentrasjoner testet var 56 % avløpsvann "blandprøve 3", avløpsvannet hadde et grumset utseende, med karakteristisk treforedlings lukt. Det var mye partikler i vannet. Avløpsvannet ble målt opp i målesylindere og fortynnet i målekolber med Maridalsvann til ønsket konsentrasjon. Testfiskene ble overført til ny løsning hvert døgn (semistatisk metode) og forsøket pågikk i 4 døgn. Fisken ble observert hvert døgn med hensyn til toksiske symptomer 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. Temperaturen under forsøkene var 12,4-13,3 °C.

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

pH		ca. 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. Det ble ikke observert død fisk eller toksiske symptomer ved 56 %. NOEC er basert på høyeste konsentrasjon uten observerbare toksiske effekter. Et sammendrag av resultatene er gjengitt i tabell 3.

### Avvik fra protokoll

Det var ingen avvik fra protokollen.

Tabell 2. Kumulativt antall døde fisk (% i parentes) ved forskjellig eksponeringstid og konsentrasjon av "Blandprøve 3 – Norske Skog". LC50 og NOEC ved ulike tidspunkt er angitt nederst i tabellen.

Konsentrasjon %	Timer			
	24	48	72	96
56	0	0	0	0
LC50	>56 %	>56 %	>56 %	>56 %
NOEC	>56 %	>56 %	>56 %	>56 %



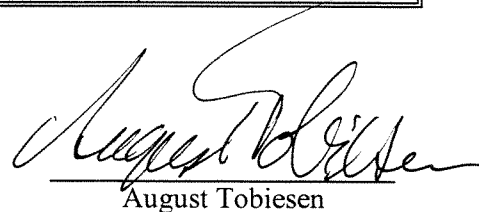
Testresultatene for "Blandprøve 3 – Norske Skog" er summert opp i tabell 3.

Tabell 3. Sammendrag av resultater for toksisitetstest ("limit test") med "Blandprøve 3 – Norske Skog" på fisk (*Salmo trutta*).

	Observasjons tidspunkt			
	24 timer	48 timer	72 timer	96 timer
LC50 (%)	>56	>56	>56	>56
NOEC (%)	>56	>56	>56	>56

Testen utført av: August Tobiesen

Testansvarlig:



August Tobiesen

## VEDLEGG 4

### Nedbrytbarhetstester

Norsk  
 Institutt  
 for  
 Vannforskning

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

## Nedbrytbarhet

OECD 301F

NIVA metode L3

**Test stoff:** Blandprøve 3.8 – 10.8 **Lab. kode:** B 343/1

**Kunde:** Norske Skog, Follum  
 Postboks 220, 3501 Hønefoss

**Prøve mottatt:** 10.08.98 **Lagringsbetingelser:** Kjølerom 2-4°C.

**Test periode:** 14. august til 11. september 1998.

### Test betingelser:

**Apparatur:** Manometrisk respirometer, WTW 2001

**Nærings-  
 løsning:** OECD 301 Standard mineral saltløsninger. Ammonia: 1.3 mg N/l i preparert test-løsning.

**Inokulum:** Mikroorganismer fra laboratorieprodusert biologisk aktivt slam (Husmann unit) dyrket i OECD syntetisk kloakk, supplert med kommunalt kloakkvann dosert over 4 døgn før start av test. Slammet ble sentrifugert (2500 G i 10 min.) og suspendert i næringsmedium for "vasking" av løste stoffer. Etter gjentatt sentrifugering ble slammet igjen suspendert i næringsmedium til 7,36 g/l STS.  
 Inokulumkonsentrasjon i testmediet: 30 mg/l STS. Antall bakterier:  $2,65 \cdot 10^7$  CFU/l.

**pH:** Start 7,6 Slutt: 7,2

**Referanse:** Anilin, 20 mg C/l. Lag-fase: 3 døgn.

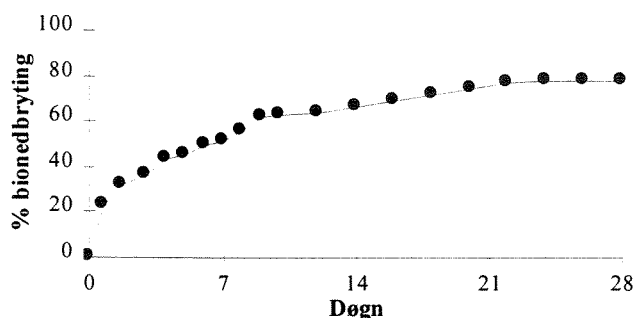
**Giftighets-  
 kontroll:** Anilin, 20 mg C/l tilsatt ved 1 : 10 fortyning av avløpsvannet.

**Konsentrasjon  
 av testprøve:** Testvannet ble fortynt 1:10 i næringsmedium. 2 testflasker ble benyttet for bestemmelse av biokjemisk oksygenforbruk (BOD). De samme duplikater ble anvendt for bestemmelse av løst organisk karbon (DOC).  
 Kjemisk oksygenforbruk ( $COD_{Cr}$ ) ble analysert ved fortyning 1:2.

### Resultater:

Parameter	$COD_{Cr}$	$BOD_{28}$	$DOC_0$	$DOC_{28}$	DOC-fjerning
Beregnet i prøven	454 mg/l	352 mg/l	133 mg/l	90 mg/l	32 %

Bionedbrytningskurve:



Bionedbrytbarhet:

$$\frac{BOD_{28}(\text{mg/l}) \cdot 100}{COD_{Cr}(\text{mg/l})} = 77 \%$$

**ANALYSER OG RESULTATER:**
**Teststoff:** Blandprøve 3.8 – 10.8

**Lab. kode:** B 343/1

Løst organisk karbon (DOC) mg/l:

Medium	Flask code	Start values	28 days
Inoculum	C1	0.7	1.3
"	C2	0.9	1.4
"	Cmv.	<b>0.80</b>	<b>1.35</b>
Test sample. (Fl. 26)	A1	14.2	10.8
" (Fl. 27)	A2	14	9.9
"	Amv.	<b>14.10</b>	<b>10.35</b>
Korrigert (Amv.-Cmv.)		13.30	9.00
DOC-reduction after 28 days of incubation (%)			<b>32</b>

Kjemisk oksygenforbruk:

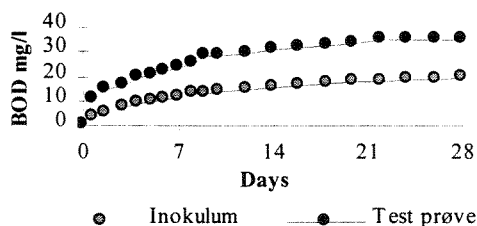
Konsentrasjon i testprøve	Replikater	COD <sub>Cr</sub> mg/l
1:2 fortynning	1	225

Biokjemisk oksygen forbruk: mg/l

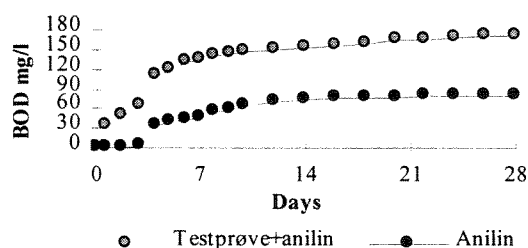
Antall dager	5	7	14	21	28	BOD <sub>28</sub> /COD
Repl. 1 (1:10)	19,4	23,0	30,6	32,6	33,6	0,74
Repl. 2 (1:10)	23,5	25,4	34,3	37,9	38,4	0,85
Repl. 3 (1:10)	18,5	21,5	28,5	32,3	33,6	0,74

 Bionedbrytning av referansetoffet (anilin) etter 14 døgn (BOD<sub>14</sub> · 100/ ThOD): = 91 %

Testprøve og blank, snittverdier:



Toksisitets kontroll: Testet ved 1:1 0 fortynning


**Test prinsipp**

Testprøven inkuberes i en bufret mineral næringsmedium over normalt 28 døgn ved  $20 \pm 1$  °C. Testen utføres i lukkede flasker koblet til et manometer. Nedbrytningsproduktet karbondioksid (CO<sub>2</sub>), som dannes under inkubasjon, absorberes i noen dråper av 10 mol KOH som er holdt i en spesiell kopp, ("sealing cup"). Det undertrykk som etableres i flasken blir registrert og transformert til BOD verdier.

**Test prøve: Blandprøve 3.8 – 10.8****Lab. kode: B 343/1**

BOD verdiene blir så korrigert for oksygenforbruket som skyldes nitrifikasjon, basert på analyser av nitrat ved start og ved endt inkubasjon.

Graden av bionedbrytning er uttrykt som biokjemisk oksygen forbruk (BOD) målt ved endt inkubasjon (normalt 28 døgn) som prosent av kjemisk oksygenforbruk (COD). I tillegg ble det analysert for løst organisk karbon (DOC) ved start og slutt for å beregne prosentlig DOC reduksjon.

### **Preparering**

200 ml avløpsvann ble fortynnet med næringsmedium til ca. 1900 ml i målekolbe. Standard mineral saltløsninger ble tilsatt får å oppnå full styrke i testmediet (for testprøvens andel).

Testmediet ble kontrollert med hensyn til pH. Deretter tilsatt 8,2 ml inokulumsuspensjon, og etterfylt med næringsmedium til 2000 ml merket. Etter omhyggelig blanding av testmediet ble porsjoner fordelt i testflaskene med bruk av målekolbe.

### **Inokulum**

Podematerialet (inokulum) ble produsert i en biologisk aktivslam simuleringsenhet (OECD, Husmann unit), dyrket på syntetisk kloakkvann (ISO 9887), periodisk forsynt med kommunalt avløpsvann.

Biologisk aktivt slam ble sentrifugert ved 2500 G i ti minutter og supernatanten ble fjernet. Det partikulære materialet ble resuspendert i næringsmedium og sentrifugert på nytt. Etter gjentatt resuspending i næringsmedium ble slammet gjort klart til bruk ved en konsentrasjon på 7.36 g/l STS. 4,1 ml suspensjon ble brukt per liter testmedium.

Antall heterotrofe bakterier i inokulum ble bestemt etter NS 4791, innstøpningsteknikk. Agarplatene ble inkubert i 3 døgn ved  $20 \pm 1$  °C, før telling.

### **Referanse substans**

Anilin ble brukt som referansesubstans, ved en konsentrasjon på 20 mg/l karbon. Gyldig BOD resultat skal være minst 60 % av teoretisk oksygenforbruk (ThOD) etter 14 døgn.

### **Giftighetskontroll**

Anilin, 20 mg C/l, tilsatt avløpsvann ved 1:10 fortynning i næringssaltløsning ble anvendt for påvisning av giftighet. Det ble ikke påvist hemningseffekt ved anvendt testkonsentrasjon.

### **Måling av oppløst oksygen**

Oppløst oksygen ble bestemt ved hjelp av et WTW OXI 2000 oksygen instrument. Avlesing ble foretatt i utvalgte testflasker ved start og i hver enkelt flaske etter inkubasjon. BOD-forløpet ble registrert ved manometeravlesing under inkubasjon. Verdien fra manometeravlesingen ble kalibrert mot oksygenverdien målt med elektrode etter 28 døgn.

### **Kjemisk oksygenforbruk (COD<sub>Cr</sub>)**

Kjemisk oksygenforbruk (COD<sub>Cr</sub>) ble analysert ved 1:2 fortynnet prøve i destillert vann. Prøvene ble konserverte med 1 ml 4M svovelsyre / 100 ml, og lagret ved 2-4 °C før analyse.

**Test prøve: Blandprøve 3.8 – 10.8**

**Lab. kode: B 343/1**

**Løst organisk karbon (DOC)**

Løst organisk karbon (DOC) i testløsningen ble analysert med Dohrmann DC 190 etter forbrenning ved 680 °C, med platina som katalysator (TC/TOC analyzer).

Det anvendte testmedium ble filtrert gjennom membranfilter (0,45 µm porestørrelse) ved start og ved endt forsøk. Prøvene ble konserverert med 4 M H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, 1 ml/100 ml prøve, og lagret ved 2-4 °C før analyse.


**Nitrat**

NO<sub>3</sub>-N konsentrasjon ble analysert i henhold til NS 4745 (Autoanalyser metode). Nitrat i testløsningen (ved start og endt forsøk) blir redusert til nitritt ved hjelp av kopper-impregnert kadmium i en bufferløsning ved pH 8.0 - 8.5. Dannet nitritt reagerer med sulfanilamid i sur løsning, og med tilstedeværelse av N-(1-naphthyl)-etylen diamin dannes et rødlig azo-fargesstoff. Absorbansen blir så målt spektrofotometrisk ved 540 nm.

Oslo, den 26. oktober 1998

Testet av: Harry Efraimsen

Forskningsleder:



Torsten Källqvist

**REFERANSER:**

1. OECD Guideline for testing of chemicals. 301F Manometric Respirometry. Adopted July 1992.
2. NS-EN ISO 9408 Bestemmelse av fullstendig aerob biologisk nedbrytbarhet av organiske forbindelser i akvatisk medium. Metode ved bestemmelse av oksygenforbruket i et lukket respirometer. 1. utgave 1993.
3. NS-ISO 8245 Retningslinjer for bestemmelse av totalt organisk karbon (TOC) Første utgave 1991.
4. NS 4748 Bestemmelse av kjemisk oksygenforbruk. Oksidasjon av dikromat (COD<sub>Cr</sub>). 2. utgave 1991.
5. NS 4745 Bestemmelse av summen av nitritt- og nitrat-nitrogen Spectrophotometric method. 2. utgave 1991.
6. NS 4791 Heterotrofe bakterier. Innstøpningsteknikk 1. utgave 1990

Norsk  
Institutt  
for  
Vannforskning

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

**Nedbrytbarhet**  
**OECD 301A**  
NIVA metode L5

**Test stoff:** Blandprøve 3.8 – 10.8 **Lab. kode:** B 343/1

**Kunde:** Norske Skog, Follum  
Postboks 220, 3501 Hønefoss

**Prøve mottatt:** 10.08.98 **Lagringsbetingelser:** Kjølerom 2-4°C.

**Test periode:** 14. august til 11. september 1998.

### Test betingelser:

**Apparatur:** 5 l glassflasker med stor åpning, magnetrørverk og 8 cm teflonbelagte magnetstaver

**Nærings-  
løsning:** OECD 301 Standard mineral saltløsninger. Ammonia: 1.3 mg N/l i preparert test-løsning.

**Inokulum:** Mikroorganismer fra laboratorieprodusert biologisk aktivt slam (Husmann unit) dyrket i OECD syntetisk kloakk, supplert med kommunalt kloakkvann dosert over 4 døgn før start av test. Slammet ble sentrifugert (2500 G i 10 min.) og suspendert i næringsmedium for "vasking" av løste stoffer. Etter gjentatt sentrifugering ble slammet igjen suspendert i næringsmedium til 7,36 g/l STS.  
Inokulumkonsentrasjon i testmediet: 30 mg/l STS. Antall bakterier:  $2,65 \cdot 10^7$  CFU/l.

**pH:** Start 7,6 Slutt: 7,9

**Referanse:** Anilin, 20 mg C/l. Lag-fase: 3 døgn.

**Giftighets-  
kontroll:** Ikke utført ved anvendt testkonsentrasjon.

**Konsentrasjon  
av testprøve:** Testvannet ble fortynnet 1:3 i næringsmedium. 2 testflasker ble benyttet for bestemmelse av løst organisk karbon (DOC).

### Resultater:

Parameter	DOC <sub>0</sub>	DOC <sub>28</sub>	DOC-fjerning
Beregnet i prøven	122 mg/l	79,2 mg/l	35 %

Oslo, den 14. oktober 1998

Testet av: Harry Efraimsen

Forskningsleder:



Torsten Källqvist

**ANALYSER OG RESULTATER:**
**Teststoff: Blandprøve 3.8 – 10.8**
**Lab. kode: B 343/1**

Løst organisk karbon (DOC) mg/l:

Medium	Flaske	Startverdi	28 døgn
Inokulum	C1	1.1	1.8
"	C2	1.1	1.8
"	Cmv.	<b>1.10</b>	<b>1.80</b>
Teststoff. (Fl. a)	A1	41.6	29.4
" (Fl.b)	A2	41.6	27
"	Amv.	<b>41.60</b>	<b>28.20</b>
Korrigert (Amv-Cmv)		40.50	26.40
DOC-reduksjon etter 28 døgn nedbrytning (%)			<b>35</b>

Bionedbrytning av referankestoffet (anilin) etter 14 døgn ( $BOD_{14} \cdot 100 / ThOD$ ): = 91 %  
 (Målt som oksygenforbruk i respirometertest, OECD 301F)

**Test prinsipp**

Testprøven ble inkubert i et bufret mineral næringsløsning over normalt 28 døgn ved  $20 \pm 1$  °C. Testen ble utført i 5 liters glass flasker hvor testmediet holdes under kontinuerlig omrøring ved hjelp av en magnetstav og magnetrørverk. Flaskeåpningen ble holdt tildekket med aluminiumsfolie for å redusere fordampningen. Væsketap ved fordampning ble erstattet med destillert vann umiddelbart før testen ble stoppet (basert på veiing). Løst organisk karbon (DOC) ble analysert ved start og ved endt testperiode.

Graden av bionedbrytning er uttrykt som reduksjon i DOC målt ved start og etter endt inkubasjon (normalt 28 døgn).

**Preparering**

500 ml avløpsvann ble blandet med ca. 900 ml næringsmedium og tilsatt mineralløsninger som kompensasjon for avløpsvannets andel. Etter pH kontroll ble 6,1 ml inokulumsuspensjon tilsatt. Til slutt ble det etterfylt med næringsmedium til 1,5 liter testporsjon. En tilsvarende parallellørpve ble preparert. En 8 cm lang magnetstav ble lagt i hver testflaske før de ble plassert på magnetrørverk for å holde kontinuerlig omrøring å testmediet under inkubasjonsperioden. Ca 200 ml testmedium ble tatt ut fra hver flaske for DOC-analyser ved start og ved endt inkubasjon.



**Test prøve:** Blandprøve 3.8 – 10.8

**Lab. kode:** B 343/1

### **Inokulum**

Podematerialet (inokulum) ble produsert i en biologisk aktivslam simuleringsenhet (OECD, Husmann unit), dyrket på syntetisk kloakkvann (ISO 9887), periodisk forsynt med kommunalt avløpsvann. Biologisk aktivt slam ble sentrifugert ved 2500 G i ti minutter og supernatanten ble fjernet. Det partikulære materialet ble resuspendert i næringsmedium og sentrifugert på nytt. Etter gjentatt resuspending i næringsmedium ble slammet gjort klart til bruk ved en konsentrasjon på 7.36 g/l STS. 4,1 ml suspensjon ble brukt per liter testmedium.

Antall heterotrofe bakterier i inokulum ble bestemt etter NS 4791, innstøpningsteknikk. Agarplatene ble inkubert i 3 døgn ved  $20 \pm 1$  °C, før telling.

### **Referanse substans**

Anilin ble brukt som referansesubstans, ved en konsentrasjon på 20 mg/l karbon. Gyldig BOD resultat skal være minst 60 % av teoretisk oksygenforbruk (ThOD) etter 14 døgn.

### **Giftighetskontroll**

Anilin, 20 mg C/l, tilsatt avløpsvann ved 1:10 fortykning i næringssaltløsning ble anvendt for påvisning av giftighet. Det ble ikke påvist hemningseffekt ved anvendt testkonsentrasjon.

### **Løst organisk karbon (DOC)**

Løst organisk karbon (DOC) i testløsningen ble analysert med Dohrmann DC 190 etter forbrenning ved 680 °C, med platina som katalysator (TC/TOC analyser).

Det anvendte testmedium ble filtrert gjennom membranfilter (0,45 µm porestørrelse) ved start og ved endt forsøk. Prøvene ble konserverert med 4 M H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, 1 ml/100 ml prøve, og lagret ved 2-4 °C før analyse.

### **REFERANSER:**

1. OECD Guideline for testing of chemicals. 301F Manometric Respirometry. Adopted July 1992.
2. NS-EN ISO 7827 Vurdering av fullstendig aerob biologisk nedbrytbarhet av organiske forbindelser i vann. Metode ved analyse av løst organisk karbon. ISO: 1994.
3. NS-ISO 8245 Retningslinjer for bestemmelse av totalt organisk karbon (TOC) Første utgave 1991.
4. NS 4791 Heterotrofe bakterier. Innstøpningsteknikk 1. utgave 1990

## VEDLEGG 5

### Bioakkumuleringstester

Norsk  
 Institutt  
 for  
 Vannforskning

P. boks 173 Kjelsås  
 0411 Oslo  
 Tel. 22 18 51 00  
 Fax. 22 18 52 00

## Bioakkumulering TLC-GC/FID metode

**Oppdragsgiver:** Follum Norske skog, Hønefoss

**Test komponent:** Avløpsvann  
**Prøve mottatt:** 10.08.98  
**Testperiode:** sept/okt 98

**Lab kode:** B343  
**Lagringsbetingelser:** Kjølerom

### Bestemmelse av potensielt bioakkumulerbart materiale i vannprøve før og etter nedbrytbarhetstest.

Potensielt bioakkumulerbart materiale skulle bestemmes i vannprøver før og etter nedbrytbarhetstest i surt ekstrakt (tynnsljikt-kromatografi og fingerprint på gass kromatograf med flammeionisasjonsdetektor).

#### Analysemetode:

Prøvene er ekstrahert ved pH 2 og TLC fraksjonert i fire soner, applikasjonssonen,  $P_{OW} > 10^{5.7}$ ,  $10^{3.88} < P_{OW} < 10^{5.7}$  og  $P_{OW} < 10^{3.88}$ . Resultatene av fingerprintanalysen er gitt i tabellen under.

Prøven før nedbrytning er testet ufortynnet mens prøven etter nedbrytning er testet i en fortykning på 1:3.

I prøven før nedbrytning ble det funnet komponenter i det bioakkumulerbare området beregnet til 16.7 µg/L for  $\log P_{OW} > 5.7$  (applikasjonssonen + fraksjon 2) og 6.0 µg/L for  $3.88 < \log P_{OW} < 5.7$  (fraksjon 3). I fraksjonen med  $\log P_{OW} < 3.88$  ble innholdet beregnet til 13 µg/L. I den samme prøven etter nedbrytning ble det funnet komponenter i det bioakkumulerbare området beregnet til 7.2 µg/L for  $\log P_{OW} > 5.7$  og i fraksjonen med  $\log P_{OW} < 3.88$  ble innholdet beregnet til 0.6 µg/L. Det ble ikke funnet komponenter i hverken applikasjonssonen eller i fraksjonen med  $3.88 < \log P_{OW} < 5.7$ .

Prøve	Kons. før TLC fraksjonering µg/L	Kons. applikasjons- sone µg/L	Kons. frak. 2 log $P_{OW} > 5.7$ µg/L	Kons. frak. 3 3.88 < log $P_{OW} < 5.7$ µg/L	Kons. frak. 4 log $P_{OW} <$ 3.88 µg/L
B 343 Før nedbrytning	30	2.7	14	6.0	13
B 343 Etter nedbrytning	20	i.d.*	7.2	i.d.	0.6

\* i.d.= ikke detektert

NIVA 23/10/98

*Norunn Følsvik*

Norunn Følsvik  
 Forsker

Vedlegg

## METODE FOR BESTEMMELSE AV POTENSIELT BIOAKKUMULERBARE SUBSTANSER.

I denne bestemmelsen er det testet på vannprøver før og etter nedbrytbarhetstest. pH på vannprøvene ble justert til ca. 2 med konsentrert svovelsyre og deretter ekstrahert med 2 x 10 ml heksan. Emulsjon ble fjernet ved utsalting med natrium klorid. Ekstraktene ble kombinert og volumet justert til 2.0 ml. Ekstraktet ble analysert gasskromatografisk og videre fraksjonert på tynnsjikt i tre fraksjoner:

Fraksjon 1: Applikasjonsone  
Fraksjon 2:  $P_{ow} < 10^{3.7}$   
Fraksjon 3:  $10^{3.8} < P_{ow} < 10^{5.7}$

Lipofile eller potensielt bioakkumulerbare organiske forbindelser ble bestemt ved tynnsjiktskromatografi av heksan ekstrakt av en vannprøve.

Fraksjonene ble skrapet av tynnsjiktsplaten, tilsatt indre standard og ekstrahert med heksan 2 ganger. Hver av ekstraktene ble analysert med gasskromatografi med flammeionisasjonsdetektor, GC/FID. Arealet til de enkelte toppene ble relatert til en ytre eller indre standard som ga et mål for mengden organisk kromatograferbare forbindelser. Med kromatograferbare forbindelser menes i dette tilfellet organiske substanser med en molekylvekt opp til ca 500, som kan analyseres gasskromatografisk. Ved beregning ble det antatt at de detekterte forbindelsene har samme respons som den indre eller ytre standarden. Dette er en grov tilnærming, da erfaring har vist at responsen på en FID for ulike organiske forbindelser kan variere med opptil 50 %. Dette betyr at metoden må betraktes som semi kvantitativ. Blindprøve er kjørt parallelt med prøvene.

Testbetingelser ved GC analysen:

Kappilærkolonne, Rtx 5  
l = 30 m, i.d. = 0.25 mm

Program:

Starttemperatur 60 °C, henstand 2 min  
Oppvarmingshastighet 5 °C/min  
Sluttemperatur 280 °C, henstand 8 min.  
Ytre standard n-C<sub>24</sub>H<sub>50</sub>  
Indre standard n-C<sub>14</sub>H<sub>30</sub>

Referanse: Renberg, L og A-C Rosén-Olofsson: Karakterisering av potensielt bioakkumulerbare substanser i industrielle avloppsvatten. Statens naturvårdsverk, Sverige, rapport 82-03.

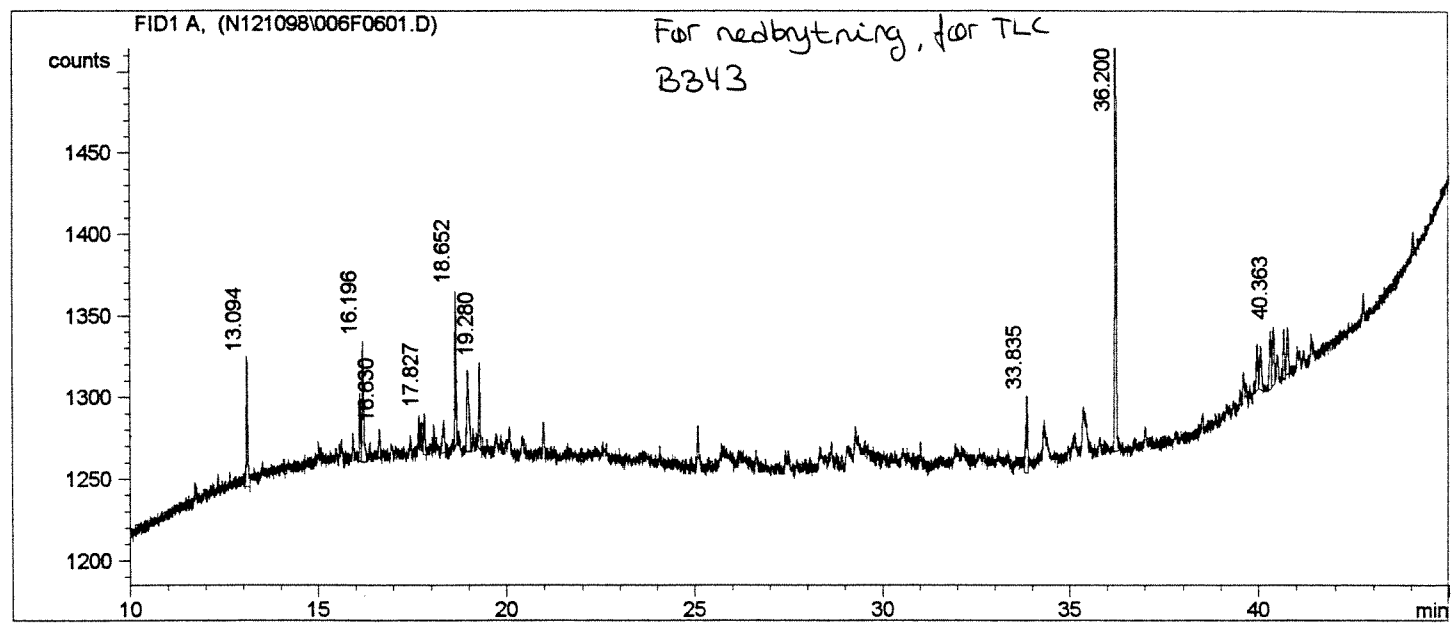
Sample Name: f0r, 200 µL

```

=====
Injection Date : 12-Oct-98, 19:51:03      Seq Line : 6
Sample Name    : f0r, 200 µL             Vial No.  : 6
Acq Operator   : nof                     Inj. No.   : 1
                                           Inj. Vol.  : -
=====
    
```

```

Acq. Method    : BIOAKK.M
Analysis Method : C:\HPCHEM\2\METHODS\BIOAKK.M
Last Changed   : Thu, 22. Oct. 1998, 04:31:58 pm
                  (modified after loading)
    
```



Customized Report: bioakk

```

Sorted By Signal
Calib. Data Modified : Fri, 9. Oct. 1998, 10:18:28 am
Dilution             : 1.000000
Uncalibrated Peaks   : not reported
    
```

Signal Description : FID1 A,

#	RT (min)	Height	Symmetry
1	0.000	0.000	0.000
2	13.094	78.767	0.808
3	16.112	41.648	0.850
4	16.196	74.241	0.745
5	16.630	18.233	0.819
6	17.756	17.722	4.076
7	17.827	25.383	0.695
8	18.073	17.612	0.841
9	18.337	20.487	1.611
10	18.652	96.893	0.918
11	18.968	50.711	0.438
12	19.280	52.671	0.844
13	33.835	47.586	1.038
14	36.200	490.582	1.002
15	39.935	29.066	1.269

#	RT (min)	Height	Symmetry
16	40.030	27.373	1.032
17	40.277	37.194	0.719
18	40.363	37.131	0.997
19	40.632	31.865	1.084
20	40.733	30.072	1.063

Totals:

\*\*\* End of Report \*\*\*

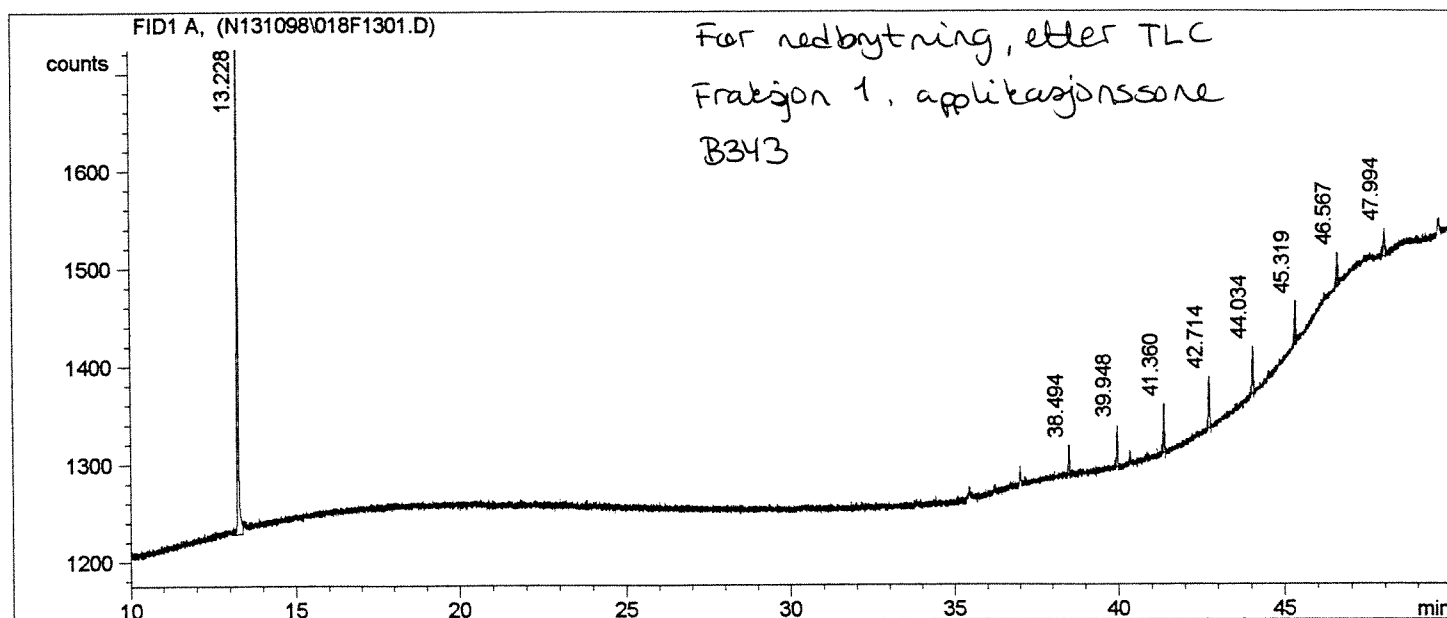
Sample Name: 1 før

1

Injection Date : Wed, 14. Oct. 1998  
 Sample Name : 1 før  
 Acq Operator : nof

Seq Line : 13  
 Vial No. : 18  
 Inj. No. : 1  
 Inj. Vol. : -

Acq. Method : BIOAKK.M  
 Analysis Method : C:\HPCHEM\2\METHODS\BIOAKK.M  
 Last Changed : Thu, 22. Oct. 1998, 04:31:58 pm  
 (modified after loading)



=====  
 Customized Report: bioakk  
 =====

Sorted By Signal

Calib. Data Modified : Fri, 9. Oct. 1998, 10:18:28 am  
 Dilution : 1.000000  
 Uncalibrated Peaks : not reported

Signal Description : FID1 A,

#	RT (min)	Height	Symmetry
1	0.000	0.000	0.000
2	13.228	578.359	0.709
3	38.494	31.388	0.817
4	39.948	44.516	0.818
5	41.360	51.205	1.197
6	42.714	54.923	0.582
7	44.034	49.899	0.761
8	45.319	44.170	1.349
9	46.567	35.545	0.489
10	47.994	29.402	1.164

-----  
 Totals:  
 -----

=====  
 \*\*\* End of Report \*\*\*  
 =====





data file : C:\HPCHEM\2\DATA\N131098\019F1401.D  
Sample Name: 2 før

2

#	RT (min)	Height	Symmetry
16	36.209	1120.420	0.891

Totals:

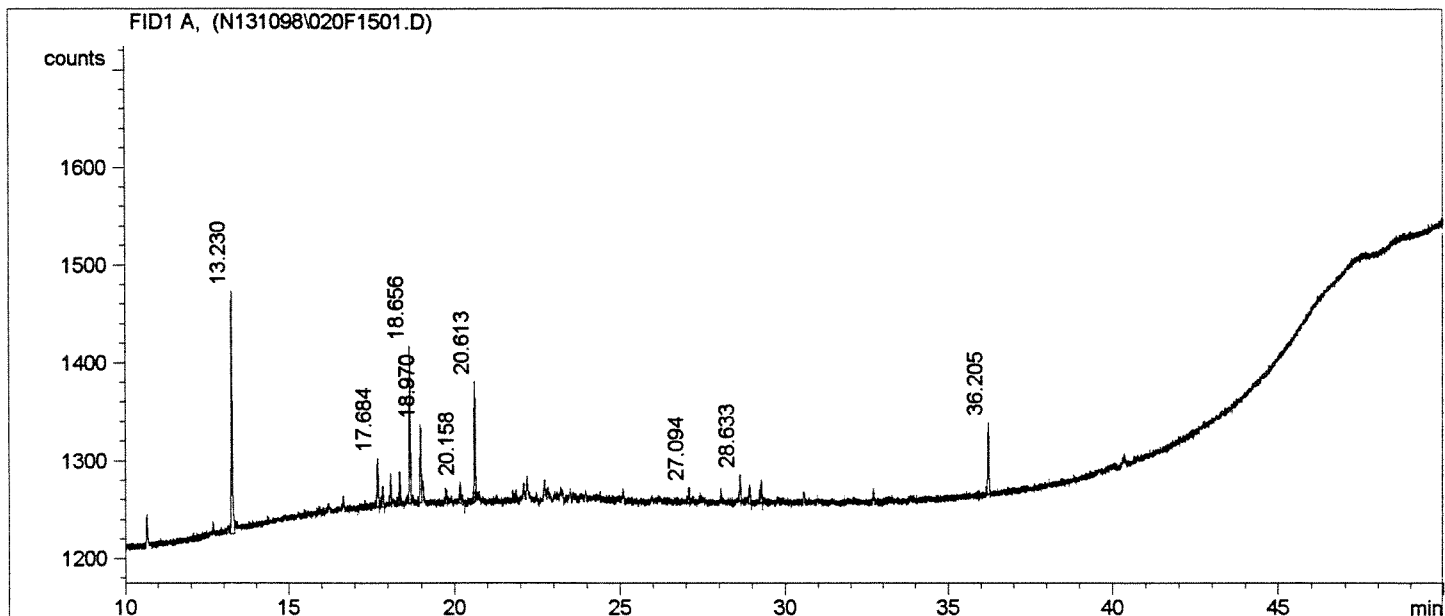
\*\*\* End of Report \*\*\*

Sample Name: 2b før

Injection Date : Wed, 14. Oct. 1998  
 Sample Name : 2b før  
 Acq Operator : nof

Seq Line : 15  
 Vial No. : 20  
 Inj. No. : 1  
 Inj. Vol. : -

Acq. Method : BIOAKK.M  
 Analysis Method : C:\HPCHEM\2\METHODS\BIOAKK.M  
 Last Changed : Thu, 22. Oct. 1998, 04:31:58 pm  
 (modified after loading)



=====  
 Customized Report: bioakk  
 =====

Sorted By Signal

Calib. Data Modified : Fri, 9. Oct. 1998, 10:18:28 am  
 Dilution : 1.000000  
 Uncalibrated Peaks : not reported

Signal Description : FID1 A,

#	RT (min)	Height	Symmetry
1	0.000	0.000	0.000
2	13.230	247.986	0.715
3	17.684	50.844	0.827
4	17.845	22.632	1.181
5	18.077	33.508	0.929
6	18.345	35.778	1.376
7	18.656	161.906	0.975
8	18.970	80.798	0.786
9	19.717	15.669	0.211
10	20.158	21.897	0.307
11	20.613	124.709	0.918
12	27.094	17.178	2.598
13	28.633	29.060	1.279
14	28.910	20.183	0.664
15	29.260	24.776	0.574

#	RT (min)	Height	Symmetry
16	36.205	74.641	0.771

Totals:

\*\*\* End of Report \*\*\*

Sample Name: 3 før

1

```

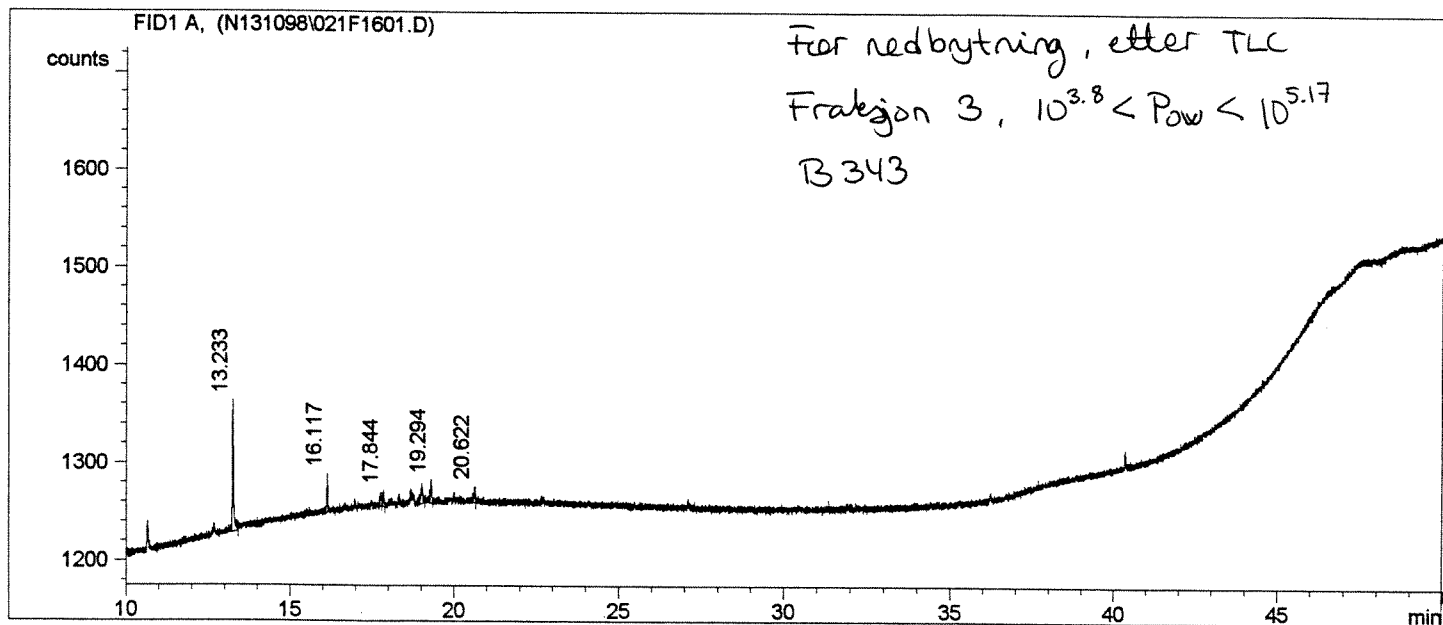
=====
Injection Date   : Wed, 14. Oct. 1998           Seq Line   :      16
Sample Name     : 3 før                         Vial No.   :      21
Acq Operator    : nof                          Inj. No.   :       1
                                                    Inj. Vol.  :       -
=====

```

```

Acq. Method     : BIOAKK.M
Analysis Method  : C:\HPCHEM\2\METHODS\BIOAKK.M
Last Changed    : Thu, 22. Oct. 1998, 04:31:58 pm
                  (modified after loading)
=====

```



```

=====
Customized Report: bioakk
=====

```

Sorted By Signal

Calib. Data Modified : Fri, 9. Oct. 1998, 10:18:28 am

Dilution : 1.000000

Uncalibrated Peaks : not reported

Signal Description : FID1 A,

#	RT (min)	Height	Symmetry
1	0.000	0.000	0.000
2	13.233	135.698	0.635
3	16.117	40.916	0.949
4	17.753	15.190	0.563
5	17.844	17.573	1.388
6	18.998	22.232	0.710
7	19.294	24.912	0.899
8	20.622	17.772	1.490

```

-----
Totals:
=====

```

```

*** End of Report ***
=====

```

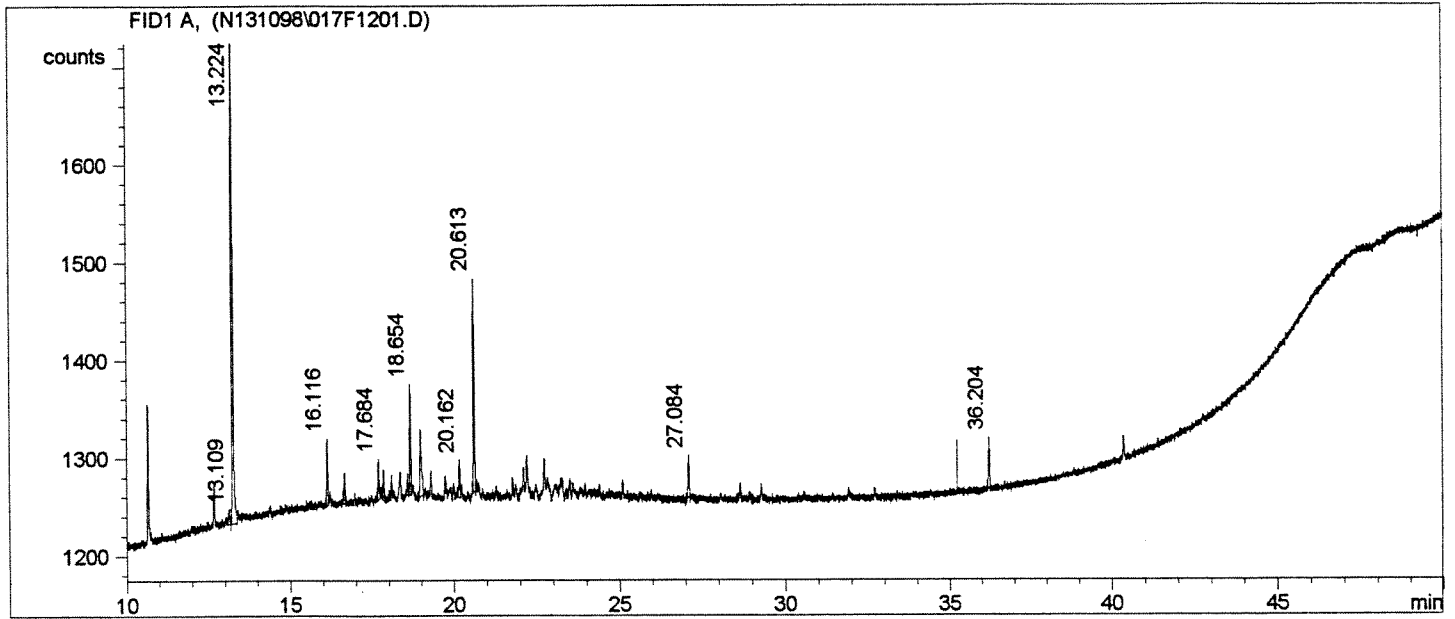
Sample Name: 2B+3 før

1

Injection Date : Tue, 13. Oct. 1998  
 Sample Name : 2B+3 før  
 Acq Operator : nof

Seq Line : 12  
 Vial No. : 17  
 Inj. No. : 1  
 Inj. Vol. : -

Acq. Method : BIOAKK.M  
 Analysis Method : C:\HPCHEM\2\METHODS\BIOAKK.M  
 Last Changed : Thu, 22. Oct. 1998, 04:31:58 pm  
 (modified after loading)



Customized Report: bioakk

Sorted By Signal

Calib. Data Modified : Fri, 9. Oct. 1998, 10:18:28 am

Dilution : 1.000000

Uncalibrated Peaks : not reported

Signal Description : FID1 A,

#	RT (min)	Height	Symmetry
1	0.000	0.000	0.000
2	13.109	16.982	1.656
3	13.224	859.892	0.755
4	16.116	69.728	1.073
5	16.635	31.684	0.758
6	17.684	43.605	0.737
7	17.834	32.205	0.910
8	18.654	113.936	0.807
9	18.972	70.792	0.582
10	20.162	38.786	1.043
11	20.613	219.660	1.054
12	27.084	44.362	0.933
13	36.204	52.975	0.695

Totals:

---

---

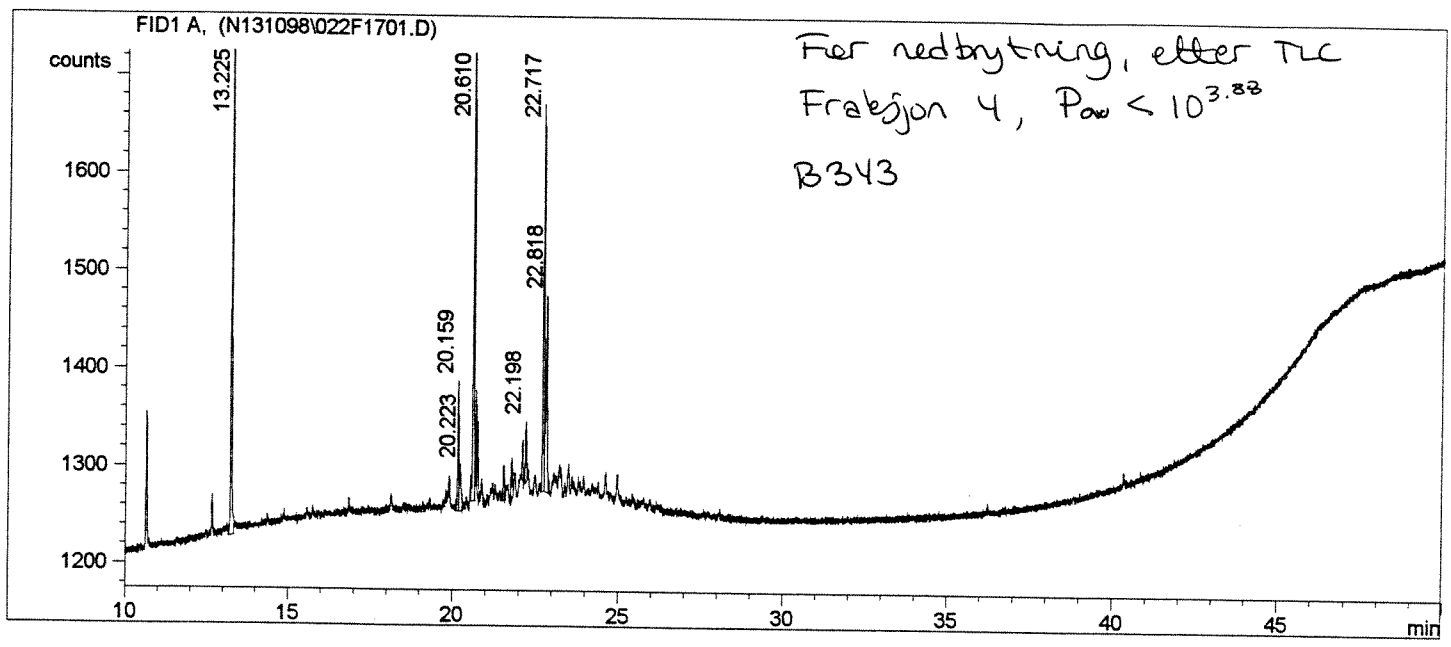
\*\*\* End of Report \*\*\*

```

=====
Injection Date : Wed, 14. Oct. 1998
Sample Name    : 4 før
Acq Operator   : nof
Seq Line      : 17
Vial No.     : 22
Inj. No.    : 1
Inj. Vol.   : -
=====
  
```

```

Acq. Method    : BIOAKK.M
Analysis Method : C:\HPCHEM\2\METHODS\BIOAKK.M
Last Changed   : Thu, 22. Oct. 1998, 04:31:58 pm
                 (modified after loading)
  
```



=====  
 Customized Report: bioakk  
 =====

```

Sorted By Signal
Calib. Data Modified : Fri, 9. Oct. 1998, 10:18:28 am
Dilution             : 1.000000
Uncalibrated Peaks   : not reported
  
```

Signal Description : FID1 A,

#	RT (min)	Height	Symmetry
1	0.000	0.000	0.000
2	13.225	527.339	0.738
3	20.159	133.814	1.012
4	20.223	48.049	0.640
5	20.610	582.079	0.943
6	20.692	97.476	1.037
7	20.743	73.548	0.787
8	21.528	37.758	0.890
9	21.764	46.308	0.637
10	22.096	42.346	1.493
11	22.198	63.805	0.682
12	22.717	397.916	0.860
13	22.818	202.002	1.366

Totals:

Data file : C:\HPCHEM\2\DATA\N131098\022F1701.D  
Sample Name: 4 før

2

\*\*\* End of Report \*\*\*

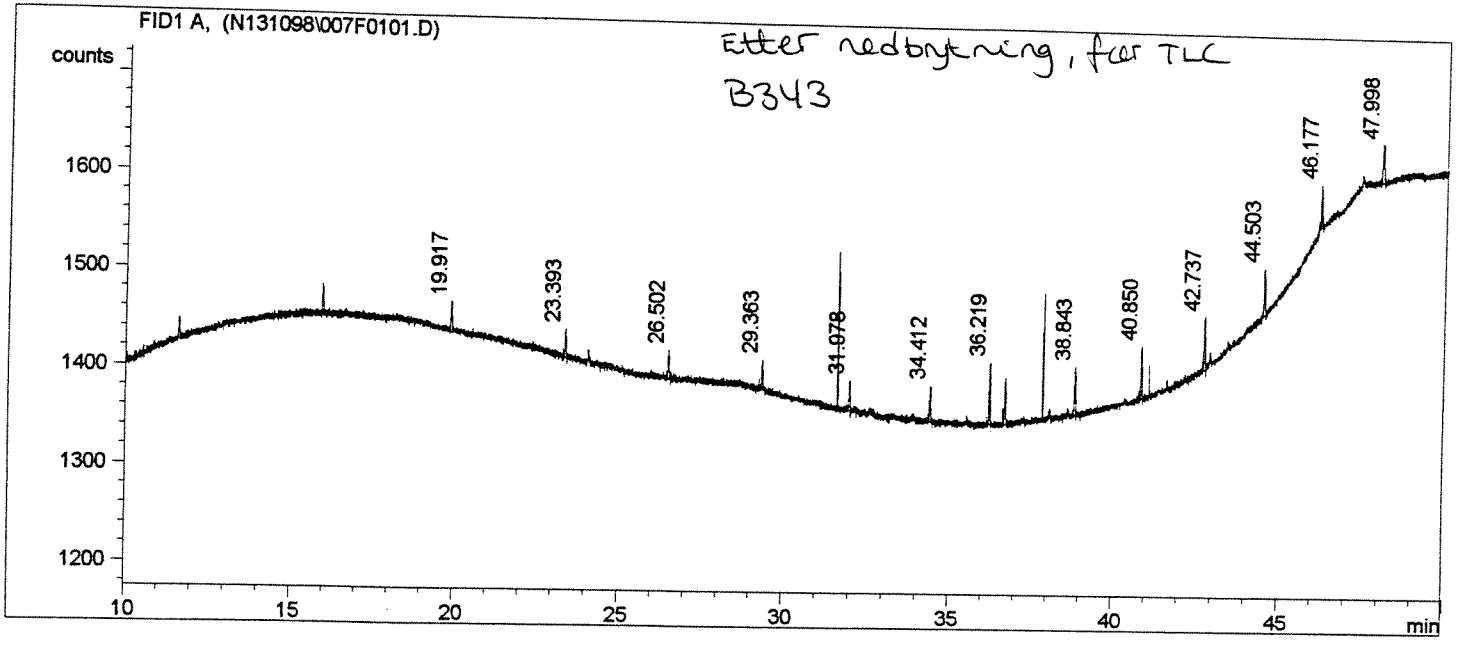


```

=====
Injection Date : Tue, 13. Oct. 1998
Sample Name    : etter, 200 µL
Acq Operator   : nof
Seq Line      : 1
Vial No.     : 7
Inj. No.    : 1
Inj. Vol.   : -
=====
  
```

```

Acq. Method : BIOAKK.M
Analysis Method : C:\HPCHEM\2\METHODS\BIOAKK.M
Last Changed : Thu, 22. Oct. 1998, 04:31:58 pm
              (modified after loading)
  
```



Customized Report: bioakk

```

Sorted By Signal
Calib. Data Modified : Fri, 9. Oct. 1998, 10:18:28 am
Dilution             : 1.000000
Uncalibrated Peaks   : not reported
  
```

Signal Description : FID1 A,

#	RT (min)	Height	Symmetry
1	0.000	0.000	0.000
2	19.917	31.329	0.713
3	23.393	29.861	0.935
4	26.502	30.085	1.303
5	29.363	30.967	1.397
6	31.978	32.411	0.768
7	34.412	38.650	1.123
8	36.219	65.186	1.298
9	36.697	49.182	1.435
10	38.843	52.166	1.221
11	40.850	54.632	0.804
12	42.737	55.828	1.195
13	44.503	50.077	0.975
14	46.177	45.238	0.819
15	47.998	41.449	0.916

Data file : C:\HPCHEM\2\DATA\N131098\007F0101.D  
Sample Name: etter, 200 µL

2

#	RT (min)	Height	Symmetry
---	----------	--------	----------

Totals:

\*\*\* End of Report \*\*\*

Sample Name: 1 etter

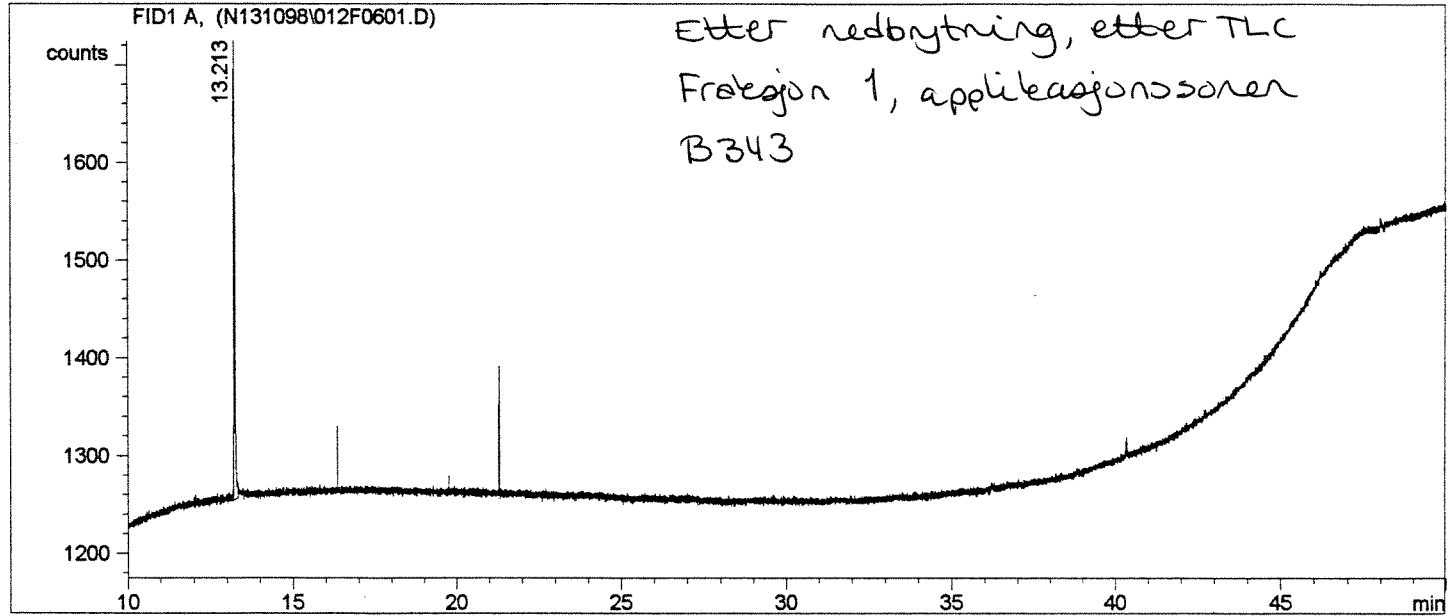
1

```

=====
Injection Date : Tue, 13. Oct. 1998           Seq Line : 6
Sample Name    : 1 etter                       Vial No.  : 12
Acq Operator   : nof                          Inj. No.   : 1
                                           Inj. Vol.  : -
    
```

```

Acq. Method    : BIOAKK.M
Analysis Method : C:\HPCHEM\2\METHODS\BIOAKK.M
Last Changed   : Thu, 22. Oct. 1998, 04:31:58 pm
                  (modified after loading)
    
```



=====  
 Customized Report: bioakk  
 =====

```

Sorted By Signal
Calib. Data Modified : Fri, 9. Oct. 1998, 10:18:28 am
Dilution             : 1.000000
Uncalibrated Peaks   : not reported
    
```

Signal Description : FID1 A,

#	RT (min)	Height	Symmetry
1	0.000	0.000	0.000
2	13.213	474.942	0.712

Totals:

=====  
 \*\*\* End of Report \*\*\*

Sample Name: 2 etter

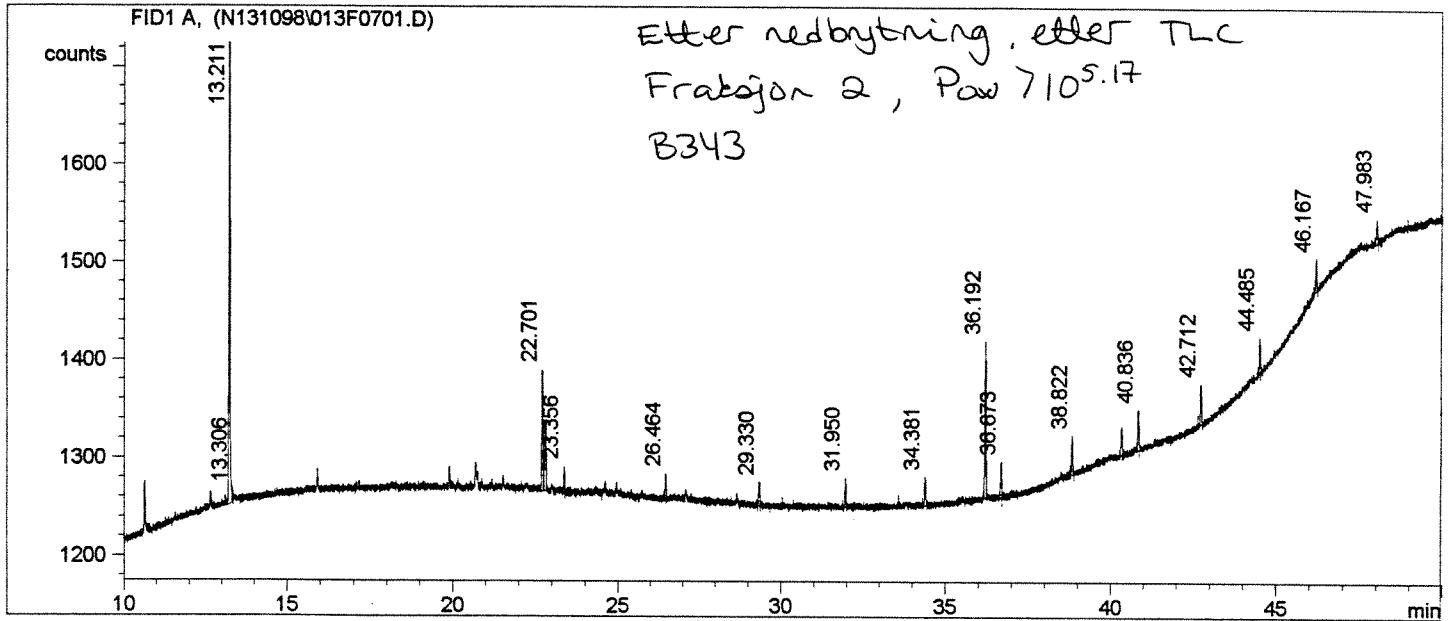
1

```

=====
Injection Date : Tue, 13. Oct. 1998           Seq Line :           7
Sample Name    : 2 etter                       Vial No.  :           13
Acq Operator   : nof                          Inj. No.   :           1
                                           Inj. Vol.  :           -
=====
    
```

```

Acq. Method    : BIOAKK.M
Analysis Method : C:\HPCHEM\2\METHODS\BIOAKK.M
Last Changed   : Thu, 22. Oct. 1998, 04:31:58 pm
                (modified after loading)
    
```



Customized Report: bioakk

```

Sorted By Signal
Calib. Data Modified : Fri, 9. Oct. 1998, 10:18:28 am
Dilution             : 1.000000
Uncalibrated Peaks   : not reported
    
```

Signal Description : FID1 A,

#	RT (min)	Height	Symmetry
1	0.000	0.000	0.000
2	13.211	520.105	0.762
3	13.306	15.205	0.352
4	22.701	125.617	0.669
5	22.808	69.576	2.201
6	23.356	28.893	0.751
7	26.464	27.146	0.782
8	29.330	24.893	0.981
9	31.950	30.737	0.684
10	34.381	30.430	0.698
11	36.192	161.249	1.124
12	36.673	38.157	1.359
13	38.822	41.118	1.354
14	40.322	30.331	0.924
15	40.836	42.666	1.489

#	RT (min)	Height	Symmetry
16	42.712	42.869	0.857
17	44.485	36.614	0.973
18	46.167	33.748	1.468
19	47.983	25.849	1.278

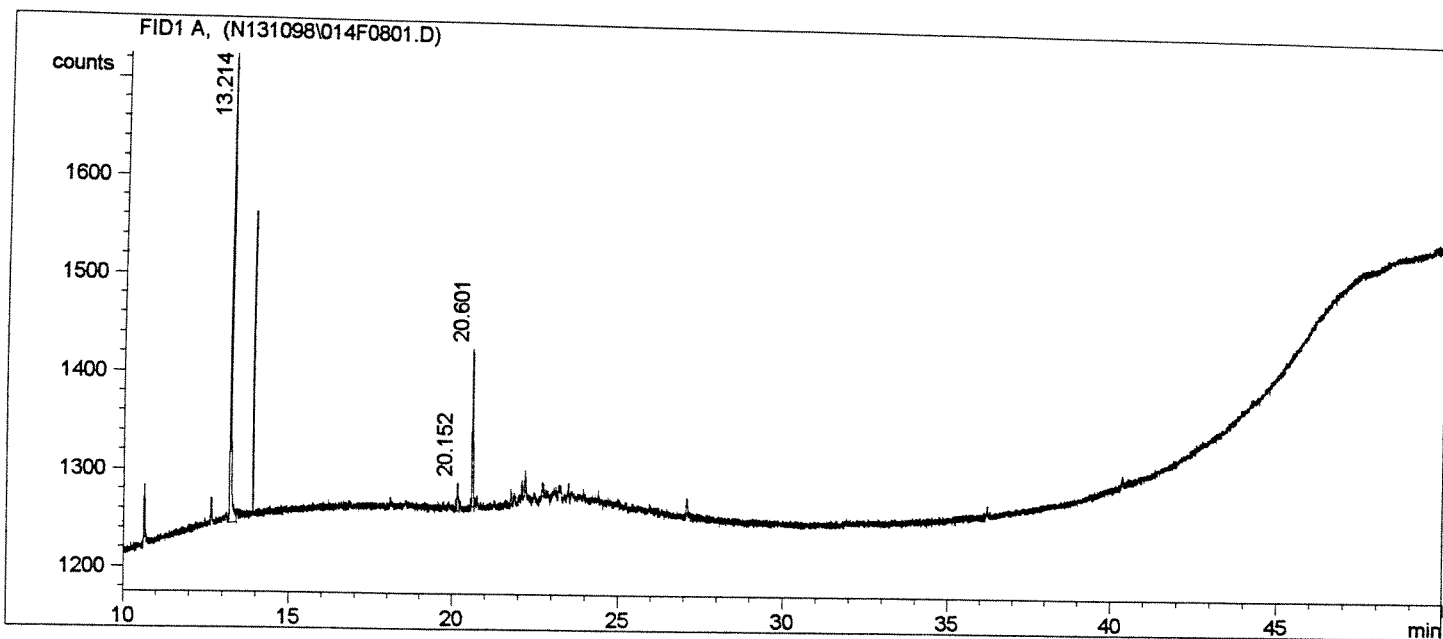
Totals:

\*\*\* End of Report \*\*\*

Injection Date : Tue, 13. Oct. 1998  
Sample Name : 2B etter  
Acq Operator : nof

Seq Line : 8  
Vial No. : 14  
Inj. No. : 1  
Inj. Vol. : -

Acq. Method : BIOAKK.M  
Analysis Method : C:\HPCHEM\2\METHODS\BIOAKK.M  
Last Changed : Thu, 22. Oct. 1998, 04:31:58 pm  
(modified after loading)



Customized Report: bioakk

Sorted By Signal

Calib. Data Modified : Fri, 9. Oct. 1998, 10:18:28 am  
Dilution : 1.000000  
Uncalibrated Peaks : not reported

Signal Description : FID1 A,

#	RT (min)	Height	Symmetry
1	0.000	0.000	0.000
2	13.214	532.923	0.668
3	20.152	29.446	0.857
4	20.601	162.844	0.876

Totals:

\*\*\* End of Report \*\*\*

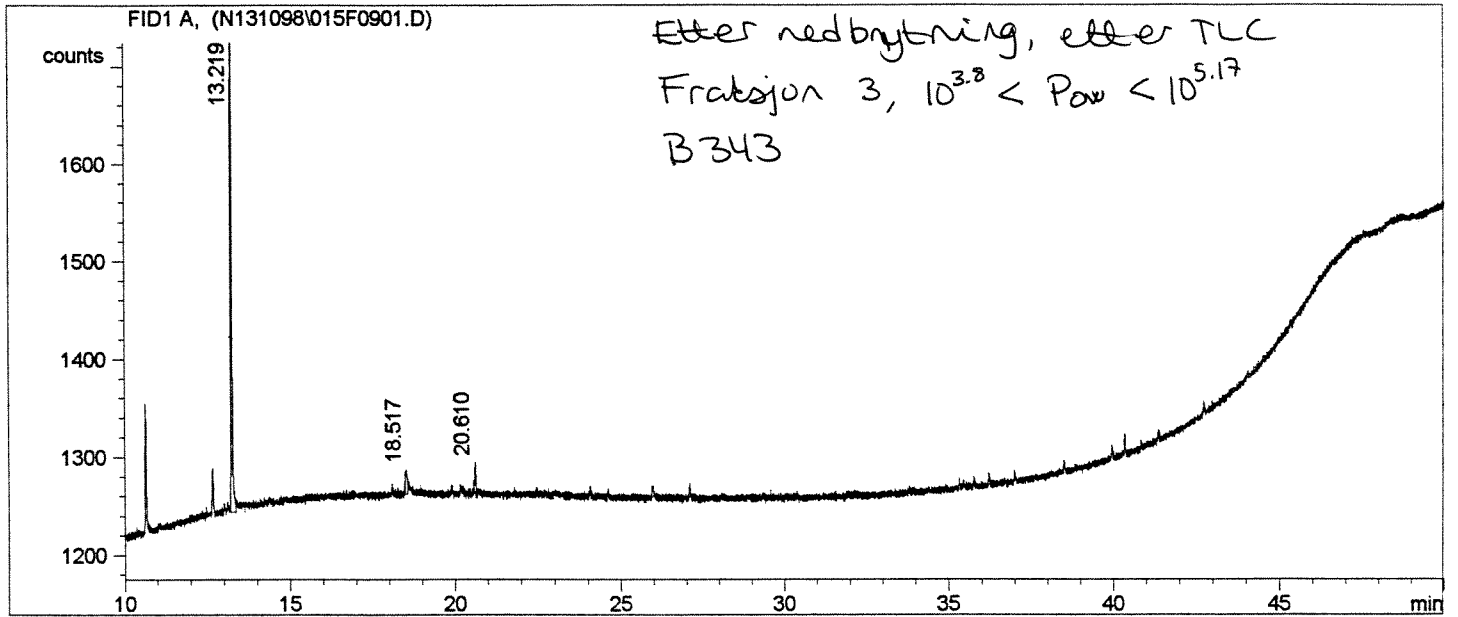
Sample Name: 3 etter

1

Injection Date : Tue, 13. Oct. 1998  
 Sample Name : 3 etter  
 Acq Operator : nof

Seq Line : 9  
 Vial No. : 15  
 Inj. No. : 1  
 Inj. Vol. : -

Acq. Method : BIOAKK.M  
 Analysis Method : C:\HPCHEM\2\METHODS\BIOAKK.M  
 Last Changed : Thu, 22. Oct. 1998, 04:31:58 pm  
 (modified after loading)



=====  
 Customized Report: bioakk  
 =====

Sorted By Signal

Calib. Data Modified : Fri, 9. Oct. 1998, 10:18:28 am

Dilution : 1.000000

Uncalibrated Peaks : not reported

Signal Description : FID1 A,

#	RT (min)	Height	Symmetry
1	0.000	0.000	0.000
2	13.219	632.491	0.745
3	18.517	26.109	1.307
4	20.610	31.878	1.021

-----  
 Totals:  
 =====

\*\*\* End of Report \*\*\*

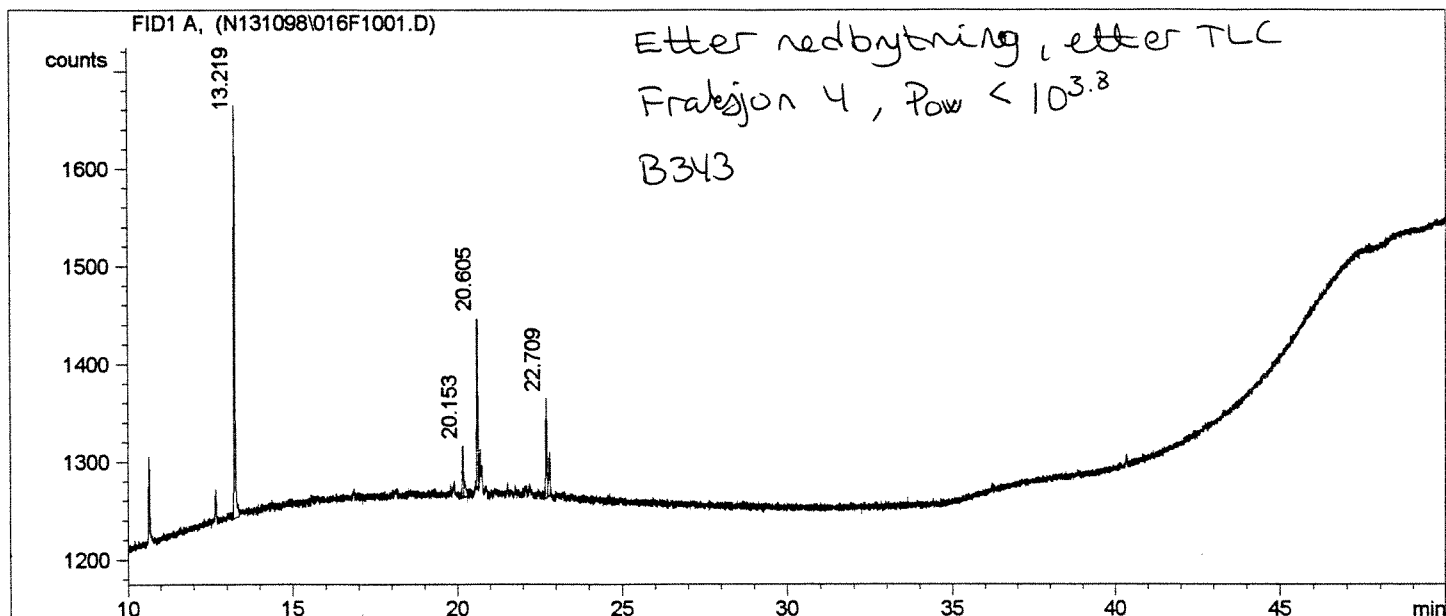
Sample Name: 4 etter

1

Injection Date : Tue, 13. Oct. 1998  
 Sample Name : 4 etter  
 Acq Operator : nof

Seq Line : 10  
 Vial No. : 16  
 Inj. No. : 1  
 Inj. Vol. : -

Acq. Method : BIOAKK.M  
 Analysis Method : C:\HPCHEM\2\METHODS\BIOAKK.M  
 Last Changed : Thu, 22. Oct. 1998, 04:31:58 pm  
 (modified after loading)



Customized Report: bioakk

Sorted By Signal

Calib. Data Modified : Fri, 9. Oct. 1998, 10:18:28 am  
 Dilution : 1.000000  
 Uncalibrated Peaks : not reported

Signal Description : FID1 A,

#	RT (min)	Height	Symmetry
1	0.000	0.000	0.000
2	13.219	423.822	0.689
3	20.153	54.164	0.980
4	20.208	17.468	0.268
5	20.605	174.938	0.923
6	22.709	102.822	0.746
7	22.812	46.121	1.756

Totals:

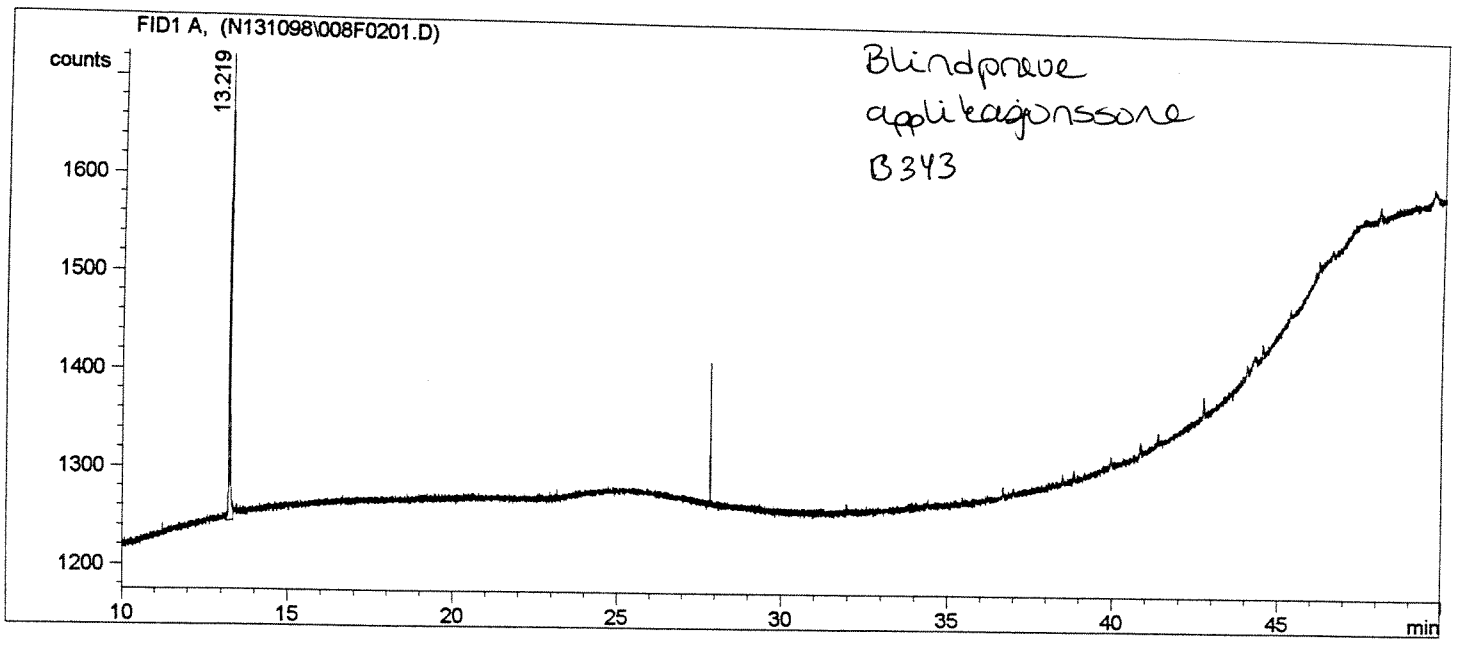
\*\*\* End of Report \*\*\*





===== 1  
Injection Date : Tue, 13. Oct. 1998  
Sample Name : 1 BL  
Acq Operator : nof  
Seq Line : 2  
Vial No. : 8  
Inj. No. : 1  
Inj. Vol. : -

Acq. Method : BIOAKK.M  
Analysis Method : C:\HPCHEM\2\METHODS\BIOAKK.M  
Last Changed : Thu, 22. Oct. 1998, 04:31:58 pm  
(modified after loading)



=====  
Customized Report: bioakk  
=====

Sorted By Signal  
Calib. Data Modified : Fri, 9. Oct. 1998, 10:18:28 am  
Dilution : 1.000000  
Uncalibrated Peaks : not reported

Signal Description : FID1 A,

#	RT (min)	Height	Symmetry
1	0.000	0.000	0.000
2	13.219	478.570	0.725

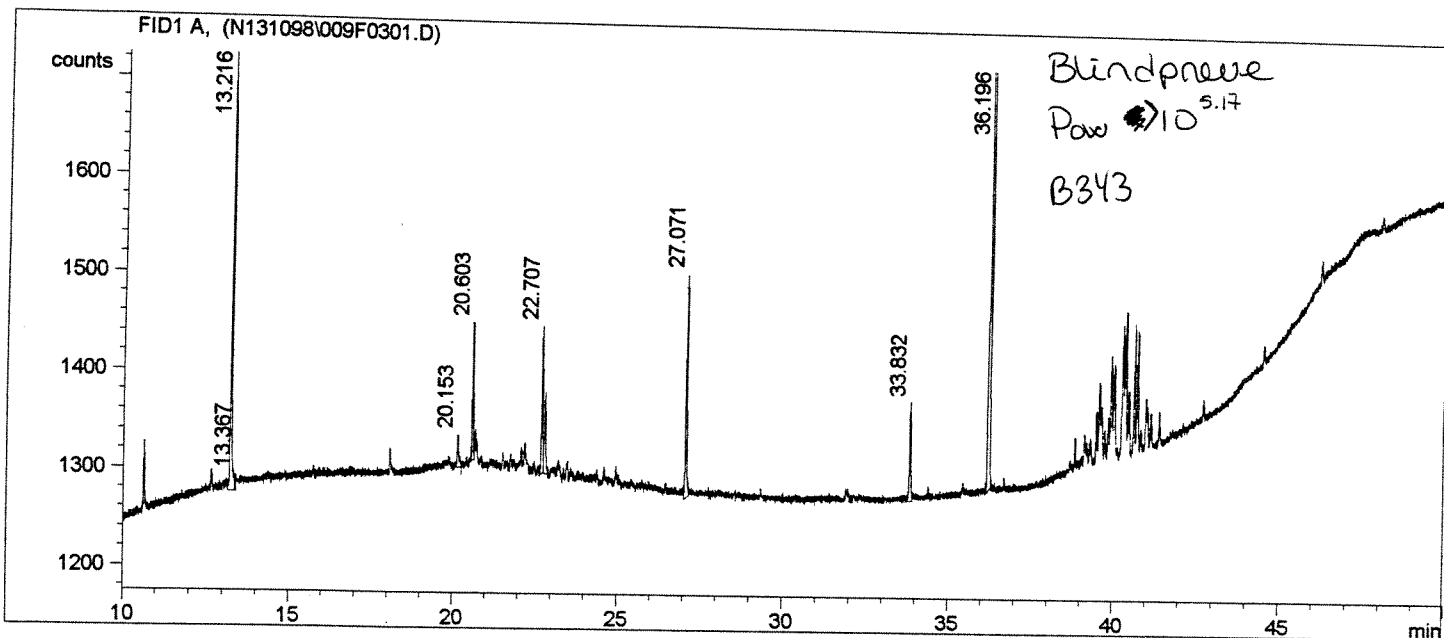
Totals:

=====  
\*\*\* End of Report \*\*\*

Injection Date : Tue, 13. Oct. 1998  
 Sample Name : 2 BL  
 Acq Operator : nof

Seq Line : 3  
 Vial No. : 9  
 Inj. No. : 1  
 Inj. Vol. : -

Acq. Method : BIOAKK.M  
 Analysis Method : C:\HPCHEM\2\METHODS\BIOAKK.M  
 Last Changed : Thu, 22. Oct. 1998, 04:31:58 pm  
 (modified after loading)



Customized Report: bioakk

Sorted By Signal  
 Calib. Data Modified : Fri, 9. Oct. 1998, 10:18:28 am  
 Dilution : 1.000000  
 Uncalibrated Peaks : not reported

Signal Description : FID1 A,

#	RT (min)	Height	Symmetry
1	0.000	0.000	0.000
2	13.216	509.345	0.732
3	13.367	17.332	1.190
4	20.153	33.364	0.636
5	20.603	142.193	0.963
6	22.707	152.567	0.758
7	22.807	84.630	1.069
8	27.071	232.487	0.771
9	33.832	102.859	0.919
10	36.196	2442.637	1.056

Totals:

\*\*\* End of Report \*\*\*

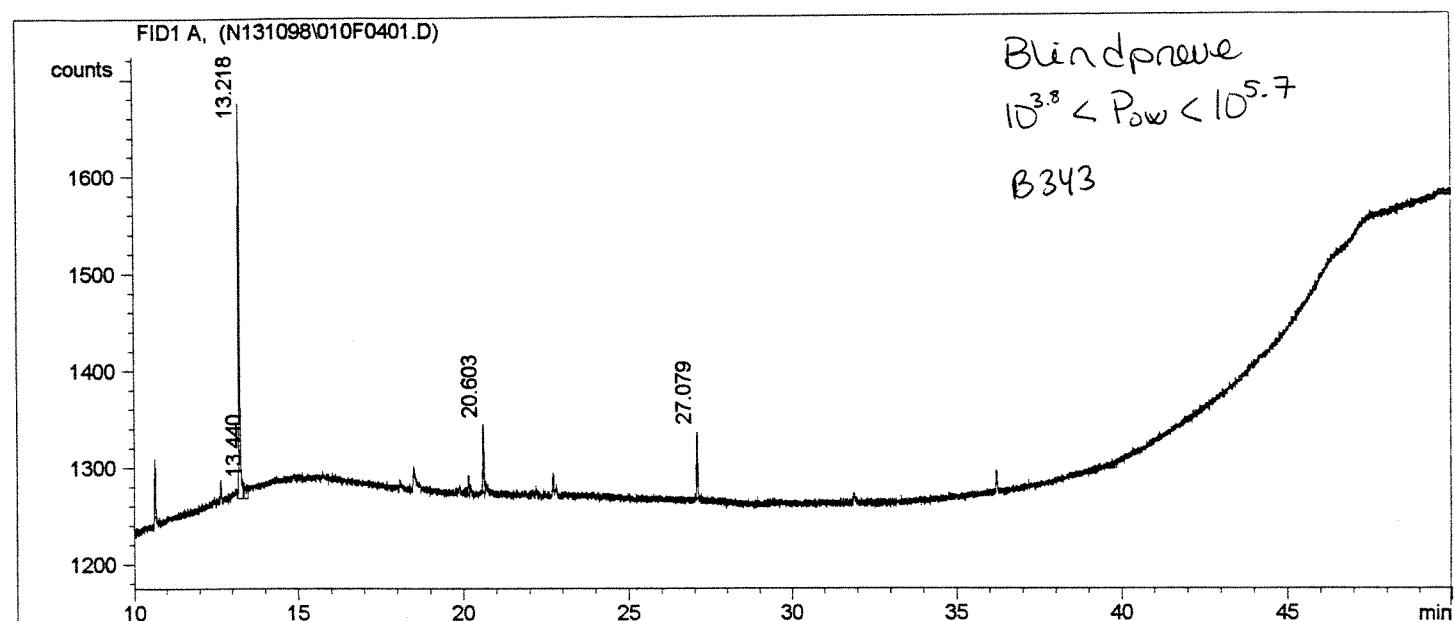
Sample Name: 3 BL

1

Injection Date : Tue, 13. Oct. 1998  
 Sample Name : 3 BL  
 Acq Operator : nof

Seq Line : 4  
 Vial No. : 10  
 Inj. No. : 1  
 Inj. Vol. : -

Acq. Method : BIOAKK.M  
 Analysis Method : C:\HPCHEM\2\METHODS\BIOAKK.M  
 Last Changed : Thu, 22. Oct. 1998, 04:31:58 pm  
 (modified after loading)



Customized Report: bioakk

Sorted By Signal  
 Calib. Data Modified : Fri, 9. Oct. 1998, 10:18:28 am  
 Dilution : 1.000000  
 Uncalibrated Peaks : not reported

Signal Description : FID1 A,

#	RT (min)	Height	Symmetry
1	0.000	0.000	0.000
2	13.218	409.643	0.660
3	13.360	15.999	1.839
4	13.440	16.033	1.620
5	20.151	18.475	0.716
6	20.603	70.731	0.759
7	27.079	69.813	1.182

Totals:

\*\*\* End of Report \*\*\*

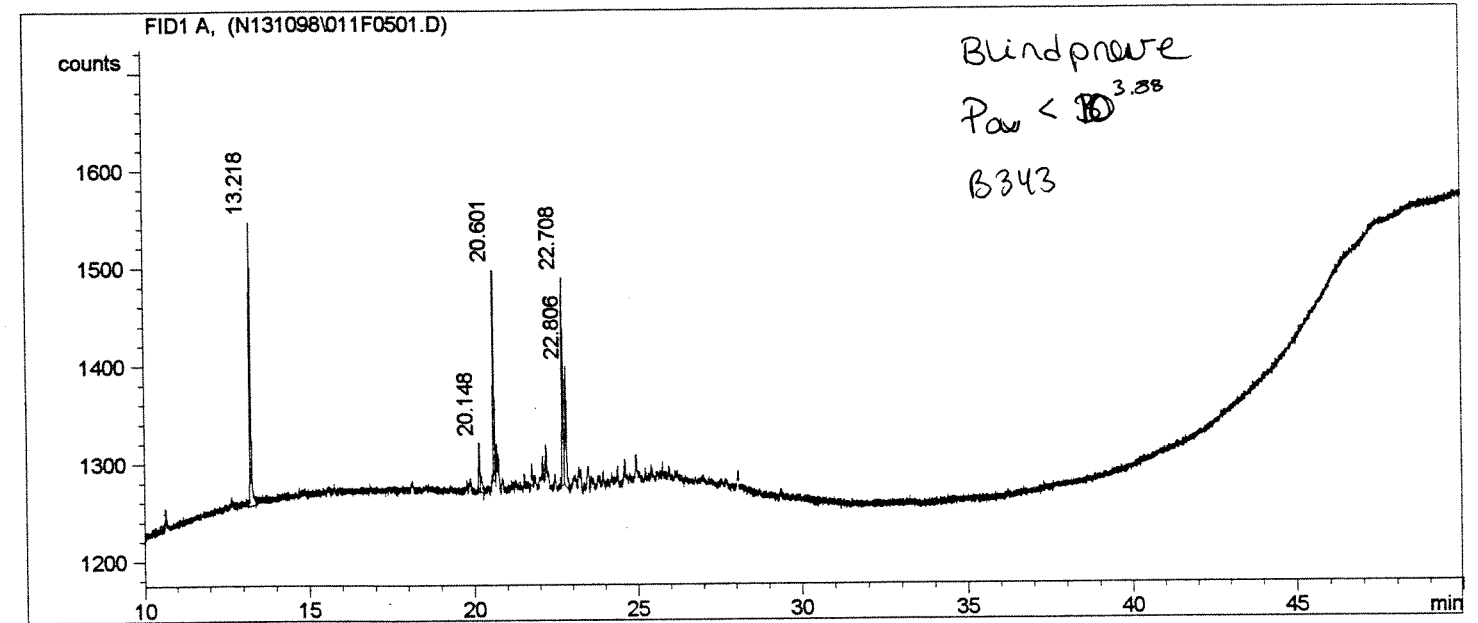
Sample Name: 4 BL

1

Injection Date : Tue, 13. Oct. 1998  
 Sample Name : 4 BL  
 Acq Operator : nof

Seq Line : 5  
 Vial No. : 11  
 Inj. No. : 1  
 Inj. Vol. : -

Acq. Method : BIOAKK.M  
 Analysis Method : C:\HPCHEM\2\METHODS\BIOAKK.M  
 Last Changed : Thu, 22. Oct. 1998, 04:31:58 pm  
 (modified after loading)



Customized Report: bioakk

Sorted By Signal  
 Calib. Data Modified : Fri, 9. Oct. 1998, 10:18:28 am  
 Dilution : 1.000000  
 Uncalibrated Peaks : not reported

Signal Description : FID1 A,

#	RT (min)	Height	Symmetry
1	0.000	0.000	0.000
2	13.218	291.648	0.681
3	20.148	50.941	0.797
4	20.216	16.687	0.632
5	20.601	217.733	0.908
6	22.708	214.090	0.807
7	22.806	123.166	0.958

Totals:

\*\*\* End of Report \*\*\*