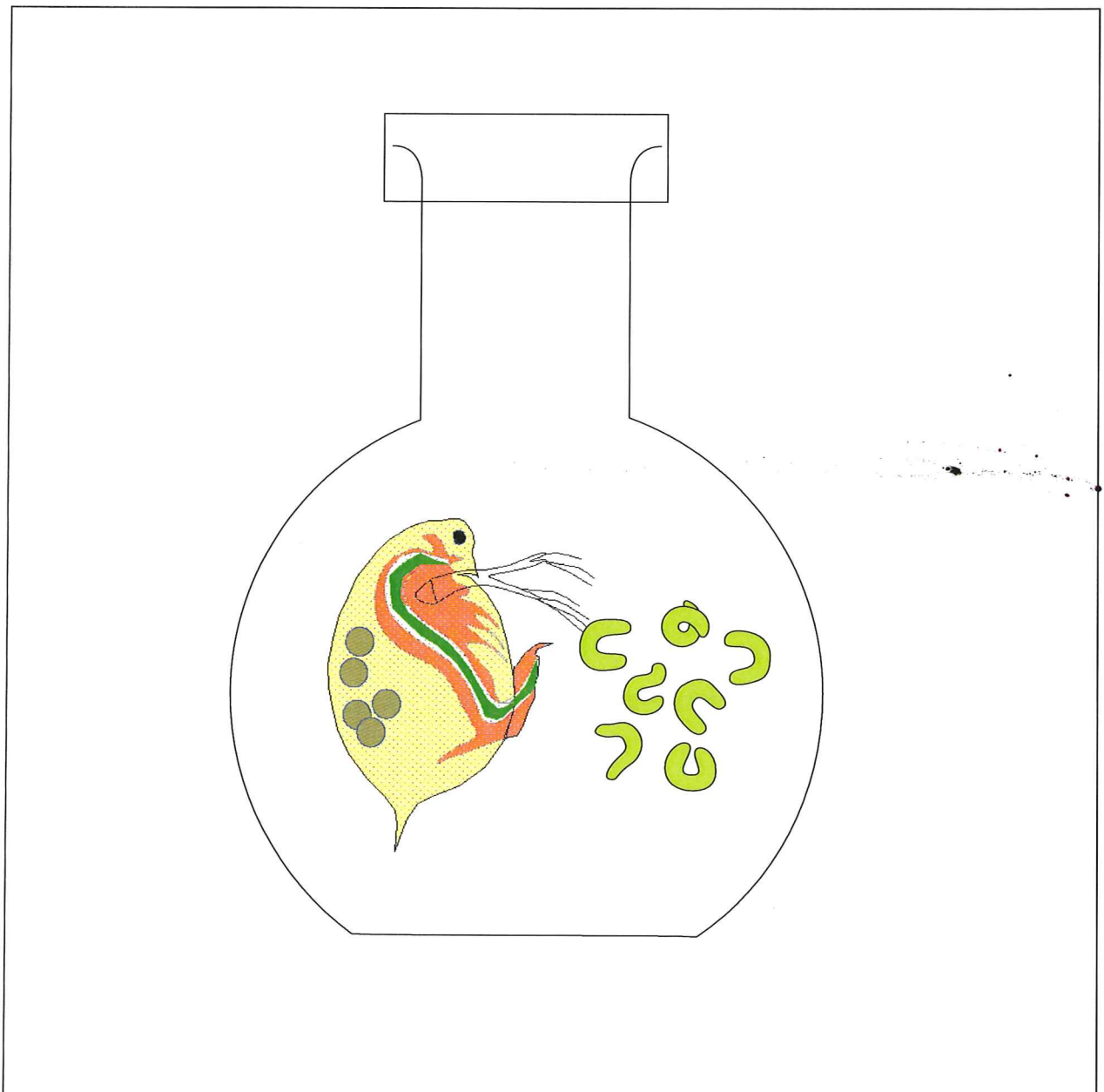


RAPPORT LNR 4223-2000

**K**jemisk og  
økotoksikologisk  
karakterisering av  
avløpsvann fra  
Alpha AS



## Hovedkontor

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

## Sørlandsavdelingen

Televeien 3  
4879 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 30 22 51

## Akvaplan-niva

9296 Tromsø  
Telefon (47) 77 75 03 00  
Telefax (47) 77 75 03 01

Tittel Kjemisk og økotoksikologisk karakterisering av avløpsvann fra Alharma AS	Løpenr. (for bestilling) 4223-2000	Dato 17.04.2000
	Prosjektnr. Undernr. 20069	Sider Pris 42
Forfatter(e) Torsten Källqvist	Fagområde Økotoksikologi	Distribusjon
	Geografisk område Oslo	Trykket NIVA

Oppdragsgiver(e) Alharma AS	Oppdragsreferanse
--------------------------------	-------------------

## Sammendrag

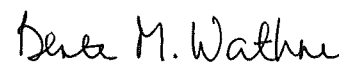
En begrenset kjemisk/økotoksikologisk karakterisering er utført av totalavløpsvann fra Alharma AS i Oslo. Undersøkelsen ble utført på to ukeblandprøver fra uke 8 og 9 år 2000. Avløpsvannet ble analysert på innhold av tungmetaller og adsorberbart organisk halogen (AOX). Giftigheten ble undersøkt ved tester med alger (*Selenastrum capricornutum*) og vannlopper (*Daphnia magna*).

Avløpsvannet hadde høyt innhold av sink (850 µg/l) men forholdsvis lave konsentrasjoner av andre tungmetaller. Det var også lite AOX (0.3-0.5 mg/l) i prøvene. Veksthemming av alger og immobilisering av *Daphnia* ble registrert i uforyttnet avløpsvann, men giftvirkningen kan likevel karakteriseres som lav. EC<sub>50</sub>-verdiene uttrykket som volumprosent avløpsvann var 55-69% for alger og 71-74% for *Daphnia*. Innholdet av organiske stoffer med potensiale for bioakkumulering var lavt.

Fire norske emneord	Fire engelske emneord
1. Industriavløpsvann	1. Industrial wastewater
2. Toksisitet	2. Toxicity
3. Bioakkumulering	3. Bioaccumulation
4. Tungmetaller	4. Heavy metals

  
Prosjektleder

  
Forskningsleder  
ISBN 82-577-6844-1

  
Forskningssjef

**Kjemisk og økotoksikologisk karakterisering av  
avløpsvann fra Alharma AS**

## Forord

Alpharma AS henvendte seg i januar 2000 til NIVA for å få utført en økotoksikologisk karakterisering av avløpsvann fra fabrikk i Oslo. Program for undersøkelsen var foreslått av Statens Foruensningstilsyn (SFT). To ukeblandprøver av avløpsvannet ble sendt til NIVA for karakterisering. Undersøkelsen ble utført i mars 2000.

Ved NIVA har Åse Gudmunsen Rogne og Torgunn Sætre utført analyser av bioakkumulerbare forbindelser, Randi Romstad og Torsten Källqvist har gjort toksisitetstester med hhv. *Daphnia* og alger. Tungmetallanalyser er utført ved NIVAs analyseseksjon og AOX-analyser ved Jordforsk, Ås.

Oslo, 17.04 2000

*Torsten Källqvist*

---

# Innhold

<b>Sammendrag</b>	<b>5</b>
<b>Summary</b>	<b>6</b>
<b>1. Program for karakteriseringen</b>	<b>7</b>
1.1 Kjemisk karakterisering	7
1.2 Økotoksikologisk karakterisering	7
1.2.1 Toksisitetstester	7
1.2.2 Bioakkumulerbarhet	8
<b>2. Resultat</b>	<b>9</b>
2.1 Kjemiske analyser	9
2.2 Toksisitetstester	9
2.3 Bioakkumuleringspotensiale	10
<b>3. Kommentarer</b>	<b>10</b>
<b>4. Referanser</b>	<b>10</b>
<b>Vedlegg A.</b>	<b>11</b>
<b>Vedlegg B.</b>	<b>22</b>

---

## Sammendrag

En begrenset kjemisk og økotoksikologisk karakterisering av avløpsvann fra Alharma AS i Oslo er utført i mars 2000. To ukeblandprøver (uke 8 og 9) ble analysert mht. tungmetaller og adsorberbart organisk halogen (AOX). Giftigheten ble undersøkt med toksisitetstester med alger (*Selenastrum capricornutum*) og vannlopper (*Daphnia magna*). Innholdet av organiske forbindelser med potensiale for bioakkumulering ble undersøkt med tynnsjiks-og gaskromatografi.

Avløpsvannet hadde høyt innhold av sink (850 µg/l) men forholdsvis lave konsentrasjoner av andre tungmetaller. Det var også lite AOX (0.3-0.5 mg/l) i prøvene. Veksthemming av alger og immobilisering av *Daphnia* ble registrert i uforynnet avløpsvann, men giftvirkningen kan likevel karakteriseres som lav. EC<sub>50</sub>-verdiene uttrykket som volumprosent avløpsvann var 55-69% for alger og 71-74% for *Daphnia*. Avløpsvannet hadde et høyt innhold av lett nedbrytbart organisk stoff som ga opphav til kraftig bakterievekst i toksisitetstestene. Innholdet av organiske stoffer med potensiale for bioakkumulering var lavt.

## Summary

Title: Chemical and ecotoxicological characterisation of wastewater from Alpharma AS

Year: 2000

Author: Torsten Källqvist

Source: Norwegian Institute for Water Research, ISBN No.: ISBN 82-577-3844-1

A chemical/ecotoxicological characterisation of the wastewater from a pharmaceutical industry in Oslo (Alpharma A) was performed in March 2000. Mixed samples of the composite wastewater, each representing one week, were collected during two consecutive weeks. The chemical characterisation included heavy metals (Zn, Cu, Cd, Cr, Ni, Hg, Pb) and adsorbable organic halogen (AOX). Toxicity tests were performed with algae (*Selenastrum capricornutum*) and *Daphnia magna* according to OECD Guidelines 201 and 202 (OECD 1981). Potentially bioaccumulative organic compounds were determined after extraction of the wastewater with heksane and fractionation with thin layer chromatography (TLC). Fractions representing different log  $P_{ow}$ - ranges were quantified using gas chromatography with flame ionisation detector (GC/FID).

The wastewater had a high content of zinc (850  $\mu\text{g/l}$ ), but rather low concentrations of other heavy metals. The AOX concentration was also low (0.3-0.5 mg/l). The undiluted wastewater caused inhibition of the growth of algae and total immobilisation of *Daphnia*, but the toxicity was characterised as low.  $\text{EC}_{50}$ -values expressed as volume per cent of wastewater were 55-69% for algae and 71-74% for *Daphnia*. The content of organic compounds with potential for bioaccumulation was low.

# 1. Program for karakteriseringen

Prøvetakingen ble gjennomført av bedriften etter retningslinjer avtalt med SFT. Prøvene ble tatt ut fra totalavløpet som mengdeproporsjonale blandprøver over én uke. Det ble tatt to ukeblandprøver uke 8 og 9, 2000. Prøvene ble samlet i polyeten plastkanner og ble mottatt på NIVA 29.02 og 07.03. Delprøver til analyse av bioakkumuleringspotensiale ble tatt ut og frosset ned. Prøver til toksisitetstester ble oppbevart i kjølerom inntil testene ble gjennomført. Prøver til kjemiske analyser ble konservert i henhold til analysemetodene. Tester/analyser som inngår i den kjemiske/økotoksikologiske karakteriseringen ble utført av NIVA og Jordforsk (AOX-analyser).

## 1.1 Kjemisk karakterisering

Følgende kjemiske analyser ble utført på ukeblandprøven:

parameter	betegnelse	metode
kadmium	Cd	atomabsorbsjon/grafittovn
krom	Cr	atomabsorbsjon/grafittovn
kobber	Cu	atomabsorbsjon/grafittovn
Nikkel	Ni	atomabsorbsjon/grafittovn
Bly	Pb	atomabsorbsjon/grafittovn
Sink	Zn	ICP
Kvikksølv	Hg	kalddampeteknikk
Adsorberbart organisk bundet halogen	AOX	ISO 9562

## 1.2 Økotoksikologisk karakterisering

Økotoksikologisk karakterisering av industriavløpsvann blir utført for å finne ut om de inneholder komponenter som kan ha miljøskadelige effekter. Avgjørende egenskaper i denne forbindelse er giftighet eller toksisitet, nedbrytbarhet og bioakkumuleringspotensial. Biologiske tester er utviklet for å undersøke disse egenskaper hos kjemikalier og sammensatte avløpsvann (Se f. eks. OECD Guidelines for Testing of Chemicals 1981).

Ved karakterisering av avløpsvann er det vanlig å kombinere biologiske tester med en kjemisk karakterisering. Omfanget av test-og analyseprogrammet må vurderes i hvert enkelt tilfelle og er avhengig av type industri, utslippets størrelse og resipientforhold.

### 1.2.1 Toksisitetstester

Avløpsvannenes toksisitet ble undersøkt med to ulike testorganismer; alger og krepsdyr (dafnier). Testmetodene er de samme som blir brukt til klassifisering/merking av kjemikalier m.h.t. miljøfarlighet, og gir et grovt mål på stoffers generelle giftighet for vannlevende organismer.

Toksisitetstestene utføres ved at testorganismene eksponeres for en konsentrasjonsserie av teststoffet (en kjemikalie eller et avløpsvann) fortynnet i et kontrollvann. Testorganismenes respons (f. eks. vekst eller dødelighet) blir så målt over en viss tid. Resultatene kan tegnes opp i et konsentrasjon/responsdiagram, som viser hvordan gifteffekten endres med konsentrasjonen av



teststoffet. Fra responsdiagrammet kan den konsentrasjon som gir 50% effekt på den målte responsen avleses. Denne konsentrasjon betegnes  $LC_{50}$ , hvis den målte respons er dødelighet (letalitet) eller  $EC_{50}$ , hvis andre responser enn dødelighet, s.k. subletale responser blir undersøkt (f. eks. vekst). EC står her for "effect concentration".

Analogt med  $LC_{50}$  og  $EC_{50}$  representerer  $LC_{10}$  og  $EC_{10}$  de konsentrasjoner som gir 10% dødelighet eller effekt på testorganismene.

Toksisitetstesten med ferskvannsalger ble utført i henhold til OECD Guideline 201 og ISO/DIS 8692 "Algal growth inhibition test", med *Selenastrum capricornutum* som testorganisme. Avløpsvannet ble filtrert gjennom et glassfiberfilter (Wathman GF/C) og tilsatt næringssaltløsninger. En konsentrasjonsserie av prøven i et algevekstmedium ble podet med aktivt voksende testalger fra en stamkultur og inkubert ved ca. 20 °C på et gyngbord med kontinuerlig belysning (ca.  $70 \mu E m^{-2} s^{-1}$ ).

Veksten i kulturene ble fulgt ved telling av algeceller etter 24, 48 og 72 timer med hjelp av en elektronisk partikkelteller (Coulter Multisizer). På grunn av interferens av bakterier ved telling av alger ble det også gjort målinger av algenes in-vivo fluorescens med en Cytofluor 2300. 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*". Avløpsvannet ble først luftet i én time for å tilføre oksygen. Forsøksdyr som var mindre enn 24 timer gamle ble eksponert i en fortyningsserie av avløpsvannet. Det ble benyttet tre enheter med 6-8 dyr for hver konsentrasjon. Testene ble utført i petriskåler med ca. 40 ml prøvevolum for å motvirke minkingen av oksygenkonsentrasjon i løsningene som følge av bakterievekst.

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.

### 1.2.2 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 avhenger av stoffets fettløselighet (lipofilitet) har man imidlertid utviklet screening-metoder for undersøkelse av potensiell bioakkumulerbarhet, som er basert på undersøkelse av fasefordelingen mellom oktanol og vann ( $P_{ow}$ ).  $P_{ow}$ -bestemmelse for rene kjemikalier blir som oftest utført med en kromatografisk metoder (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  $P_{ow} > 1000$  ( $\log P_{ow} > 3$ ).

Bioakkumulerbarhetstesten ble utført med en tynnsjikt-kromatografisk metode. En delprøve av avløpsvannet ble ekstrahert med heksan. Heksanekstraktet ble satt av på en tynnsjiktplate for separering av komponenter med forskjellig lipofilitet. Fra tynnsjiktplate ble fraksjoner tilsvarende ulike  $P_{ow}$ -intervaller skrapet av for kvantifisering med GC/FID-analyse.  $P_{ow}$ -intervallene blir identifisert m.h.a. referenestoff med kjente  $P_{ow}$ -verdier.

## 2. Resultat

### 2.1 Kjemiske analyser

**Tabell 1.** Resultat av kjemiske analyser av avløpsvann, ukeprøve 8 og 9.

Parameter		uke 8	uke 9
Cd	µg/l	0.19	0.16
Cr	µg/l	3.6	7.3
Cu	µg/l	80	83
Ni	µg/l	8.5	14.3
Pb	µg/l	1.4	1.8
Zn	µg/l	850	-
Hg	µg/l	<0.1	<0.1
AOX	mg/l	0.292	0.449

### 2.2 Toksisitetstester

Utførlige rapporter av testene med alger og *Daphnia* fins i vedlegg A. I testene med alger ble det observert begynnende veksthemming ved konsentrasjoner over 10% (uke 8) og 18% (uke 9). Hemmingen øket med konsentrasjonen av avløpsvann, men var ikke fullstendig i det ufortynnede avløpsvannet (100% konsentrasjon). I begge testene vokste algene imidlertid bare det første døgnet i ufortynnet avløpsvann. EC<sub>50</sub>-verdiene var 55% uke 8 og 69% uke 9. Det utviklet seg en kraftig vekst av bakterier i samtlige konsentrasjoner av avløpsvannene.

Toksisitetstestene med *Daphnia magna* ble utført i petriskåler med stor overflate for å redusere problemet med lave oksygenkonsentrasjoner som følge av bakterievekst. Likevel var konsentrasjonen av løst oksygen nede i 2.4-2.5 mg/l etter 24 timer i de ufortynnede avløpsvannprøvene. Det ble ikke registrert dødelighet eller immobilisering opp til 56% konsentrasjon uke 8 og 32% konsentrasjon uke 9. I det ufortynnede avløpsvannet ble samtlige forsøksdyr immobilisert allerede etter 24 timer. Oksygenkonsentrasjonen var over grenseverdien 2 mg/l i henhold til ISO-standarden og tyder på at dødeligheten ikke skyldes for lavt oksygeninnhold. EC<sub>50</sub>-verdien for immobilisering var 74 % uke 8 og 71% uke 9.

**Tabell 2.** Resultat av toksisitetstester av avløpsvann, ukeprøve 8 og 9. EC-verdier for 10 og 50 % effekt er angitt som volumprosent avløpsvann

Testorganisme	uke 8		uke 9	
	EC <sub>50</sub>	EC <sub>10</sub>	EC <sub>50</sub>	EC <sub>10</sub>
<i>Selenastrum capricornutum</i>	55	18	69	25
<i>Daphnia magna</i>	74	60	71	56

## 2.3 Bioakkumuleringspotensiale

Testerapporter fra analysene av potensielt bioakkumulerbare organiske forbindelser fins i vedlegg B. Resultatene er sammenstilt i **Tabell 3**.

**Tabell 3.** Total mengde organisk stoff i heksan-ekstrakt fra avløpsvann og etter fraksjonering på tynnsjiktplate i ulike intervaller av  $P_{ow}$ .

Prøve	Kons. før TLC fraksjonering ( $\mu\text{g/l}$ )	Fraksjon 1 applikasjons- sone ( $\mu\text{g/l}$ )	Fraksjon 2 $\log P_{ow} > 5.7$ ( $\mu\text{g/l}$ )	Fraksjon 3 $3.8 < \log P_{ow} < 5.7$ ( $\mu\text{g/l}$ )	Fraksjon 4 $\log P_{ow} < 3.8$ ( $\mu\text{g/l}$ )
uke 8	1200	3.5	0.9	25	48
uke 9	100	1.9	0.7	14	38

## 3. Kommentarer

De kjemiske analysene viser at innholdet av de fleste undersøkte tungmetaller er lave, men konsentrasjonen av Zn var høyt (850  $\mu\text{g/l}$ ). Prøven fra uke 9 ble ved en feiltagelse ikke analysert for sink, men de øvrige analysene tyder på at metallinnholdet i de to ukeprøvene var forholdsvis likt. Det ble påvist noe organisk bundet halogen (klor) i begge prøvene, men konsentrasjonene var lave. Til sammenlikning kan nevnes at det svenske Naturvårdsverket foreslår 1 mg/l som grenseverdi for vurdering av tiltak (Naturvårdsverket 1992).

Toksisitetstestene viser at avløpsvannet hadde lav giftighet overfor både alger og *Daphnia*. I begge testene ble det observert en meget rask utvikling av bakterier i avløpsvannet, som viser at det inneholder mye lett nedbrytbart organisk materiale. Det kan ikke utelukkes at bakterieveksten kan ha bidratt noe til hemmingen av algenes vekst. I *Daphnia*-testen førte bakterieaktiviteten til høyt forbruk av oksygen, men likevel ikke så mye at dødeligheten av *Daphnia* i de ufortynnede prøvene skyldes for lave konsentrasjoner av løst oksygen.

Konsentrasjonene av sink og kobber i avløpsvannet er høye nok til å forklare den observerte giftvirkningen på alger og *Daphnia*. For algene kunne man ventet en enda sterkere veksthemming, spesielt av sink, men det er trolig at metallenes biotilgjengelighet er redusert ved kompleksing til organisk stoff i avløpsvannet.

Innholdet av organiske forbindelser med potensiale for bioakkumulering var lavt. Vanligvis regner man med at stoffer med  $\log P_{ow} > 3$  har potensiale for akkumulering i organismer. I testene ble det funnet mindre enn 1  $\mu\text{g/l}$  i sonen med  $\log P_{ow} > 5.7$  og 14-25  $\mu\text{g/l}$  i  $P_{ow}$ -intervallet 3.8-5.7. Analysen er ikke helt kvantitativ, men resultatene viser likevel at konsentrasjonene er lave. Til sammenlikning kan nevnes at det svenske Naturvårdsverket, som har benyttet denne analysen i undersøkelser av avløpsvann fra kjemisk industri bruker 500  $\mu\text{g/l}$  potensielt bioakkumulerbare stoffer som grenseverdi for vurdering av begrensningstiltak (Naturvårdsverket 1992).

## 4. Referanser

Naturvårdsverket 1992: Utslåpp av stabila organiska ämnen från kemiindustrin. Rapport 4103.

OECD 1981: Guidelines for Testing of Chemicals, OECD, Paris

## **Vedlegg A.**

Testrapporter – Toksisitetstester



Teststoff: **Alpharma toatlavløp 8-2000**  
Kunde: Alpharma AS  
Adresse: Postboks 158 Skøyen, 0212 Oslo

Lab. kode: **B390/1**  
Prøve mottatt 29.02.2000

Testmetode: ISO 8692, OECD 201: 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: 08.03.2000  
Forbehandling av prøve: Filtrert gjennom GF/C glassfiberfilter  
Konsentrasjoner: 5,6, 10, 18, 32, 56, 100 %  
Test medium: ISO 8692  
Inkuberingsutstyr: Gyngebord  
Dyrkingsflasker: 100 ml ståkolber med 50 ml medium  
Lys: ca. 75  $\mu\text{E m}^2 \text{s}^{-1}$ , kontinuerlig fra dagslys-type lysstoffrør  
Temperatur: 20.6 – 21.5 °C  
pH i kontroll Start: 8.0 Slutt: 7.9  
pH i høyeste konsentrasjon Start: 7.5 Slutt: 8.6  
Vekstmåling: Partikkeltelling med Coulter Multisizer og måling av fluorescens med Cytofluor 2300  
Beregning av  $\text{EC}_{50}$  \* 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 avløpsvann er listet lengst ned på skjemaet. Vekstkurver for hver konsentrasjon av avløpsvannet er vist i figur 1. Konsentrasjon/responskurven er vist i figur 2.

Parameter	Enhet	$\text{EC}_{50}$	95% konf. int.	$\text{EC}_{10}$	95% konf. int.	NOEC
Veksthastighet	%	55	52 – 58	18	17 - 19	10

\*  $\text{EC}_{50}$  = Den konsentrasjon som gir 50% reduksjon av testparameteren i forhold til kontrollkulturer

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

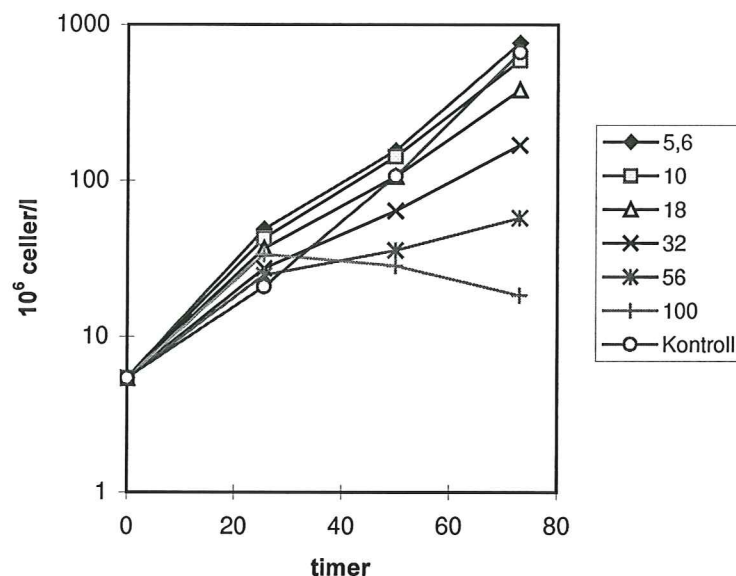


Fig. 1. Vekstkurver for *Selenastrum capricornutum* i ulike konsentrasjoner av totalavløp uke 8-2000

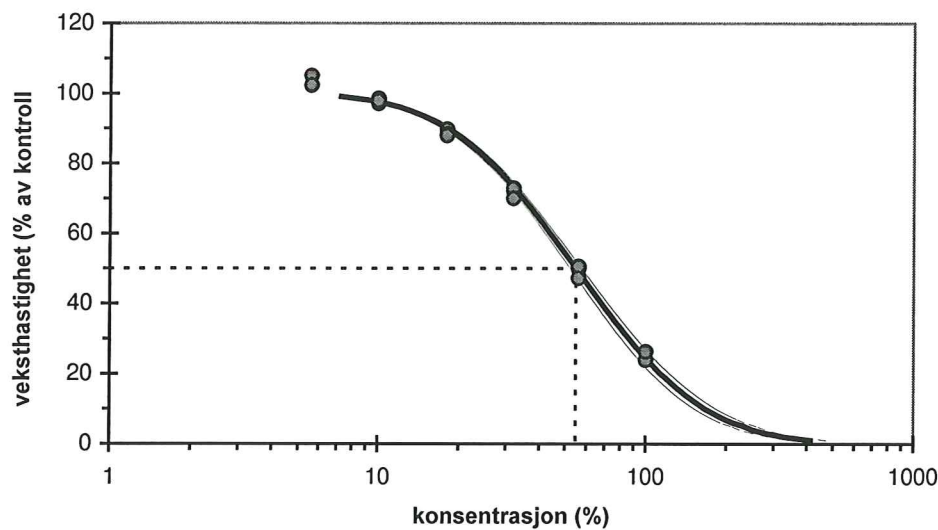


Fig. 2. Effekt av totalavløp 8-2000 på veksthastigheten til *Selenastrum capricornutum*.

Oslo 13.03.00

Utført av: Torsten Källqvist

Testansvarlig:



Torsten Källqvist

### 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  
 COMPOUND: Totalavløp 8-2000  
 TEST ALGA: *Selenastrum capricornutum*  
 INOCULUM: 5,40 mill. cells/l

Date: 8.3.00  
 Lab. code: B390/1  
 Medium: ISO 8692

	Hours:	Day 1	Day 2	Day 3	Area	Area %	G. rate	G. rate %
Conc.	%	25,5 mill/l	50 mill/l	73 mill/l				
5,6	"	49,0	160	831	14256	138	1,66	105
5,6	"	50,0	150	729	12871	124	1,61	102
5,6	"	47,0	155	731	12937	125	1,61	102
10	"	39,0	139	608	10943	106	1,55	98
10	"	43,0	142	567	10643	103	1,53	97
10	"	46,0	145	589	11042	107	1,54	98
18	"	37,0	112	400	7860	76	1,42	90
18	"	33,0	102	375	7235	70	1,39	88
18	"	40,0	103	367	7341	71	1,39	88
32	"	26,0	60	171	3716	36	1,14	72
32	"	28,0	66	178	3989	39	1,15	73
32	"	28,0	65	155	3701	36	1,10	70
56	"	24	34	59	1761	17	0,79	50
56	"	24	37	61	1855	18	0,80	51
56	"	26	36	52	1778	17	0,74	47
100	"	33	26	17	1313	13	0,38	24
100	"	33	29	19	1407	14	0,41	26
100	"	35	30	19	1481	14	0,41	26
	"							
0	"							
0	"							
Control		22,0	131	771	12202	118	1,63	103
		18,0	86	544	8423	81	1,52	96
		18,0	101	640	9883	96	1,57	100
		22,0	87	508	8133	79	1,49	95
		26,0	131	832	13004	126	1,66	105
		19,0	101	687	10449	101	1,59	101

## MEAN VALUES

%

5,60 Mv:	48,67	155,00	763,67	13355	129,04	1,63	103,21
St. d.	1,25	4,08	47,62	638	6,16	0,02	1,27
10,00 Mv.	42,67	142,00	588,00	10876	105,09	1,54	97,79
St. d.	2,87	2,45	16,75	170	1,64	0,01	0,60
18,00 Mv.	36,67	105,67	380,67	7479	72,26	1,40	88,72
St. d.	2,87	4,50	14,06	273	2,64	0,01	0,76
32,00 Mv.	27,33	63,67	168,00	3802	36,74	1,13	71,64
St. d.	0,94	2,62	9,63	132	1,28	0,02	1,21
56,00 Mv.	24,67	35,67	57,33	1798	17,37	0,78	49,21
St. d.	0,94	1,25	3,86	41	0,40	0,02	1,43
100,00 Mv.	33,67	28,33	18,33	1400	13,53	0,40	25,46
St. d.	0,94	1,70	0,94	69	0,66	0,02	1,09
Mv.	0,00	0,00	0,00	0	0,00	0,00	0,00
St. d.	0,00	0,00	0,00	0	0,00	0,00	0,00
Control Mv.	20,83	106,17	663,67	10349	100,00	1,58	100,00
St. d.	2,85	18,53	115,12	1795	17,34	0,06	3,67
Coefficient of variation in controls (%):				17,34		3,67	



**Teststoff:** Alpha Pharma toatlavløp 9-2000  
**Kunde:** Alpha Pharma AS  
**Adresse:** Postboks 158 Skøyen, 0212 Oslo

**Lab. kode:** B390/2  
**Prøve mottatt:** 07.03.2000

**Testmetode:** ISO 8692, OECD 201: 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:** 08.03.2000  
**Forbehandling av prøve:** Filtrert gjennom GF/C glassfiberfilter  
**Konsentrasjoner:** 5,6, 10, 18, 32, 56, 100 %  
**Test medium:** ISO 8692  
**Inkuberingsutstyr:** Gyngebord  
**Dyrkingsflasker:** 100 ml ståkolber med 50 ml medium  
**Lys:** ca. 75  $\mu\text{E m}^2 \text{s}^{-1}$ , kontinuerlig fra dagslys-type lysstoffrør  
**Temperatur:** 20,6 – 21,5 °C  
**pH i kontroll:** Start: 8.0 Slutt: 7.9  
**pH i høyeste konsentrasjon:** Start: 7.4 Slutt: 8.5  
**Vekstmåling:** Partikkeltelling med Coulter Multisizer og måling av fluorescens med Cytofluor 2300  
**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 avløpsvann er listet lengst ned på skjemaet. Vekstkurver for hver konsentrasjon av avløpsvannet 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	%	69	64 – 75	25	23 - 27	18

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

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



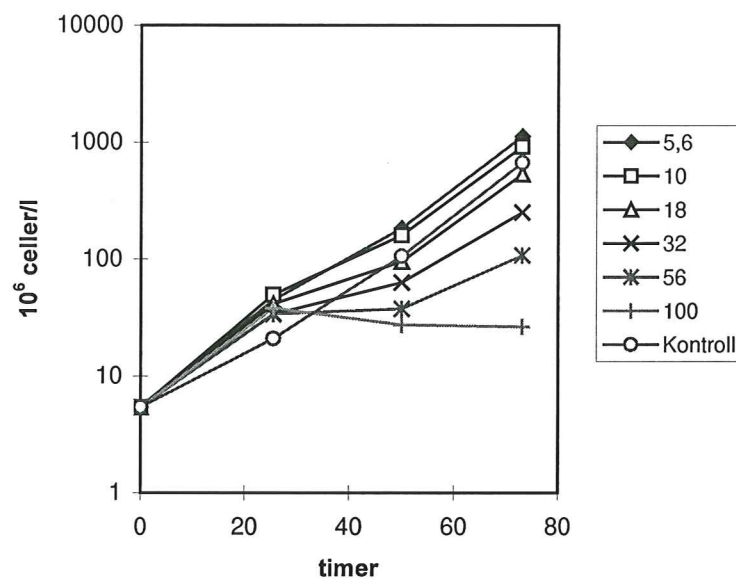


Fig. 1. Vekstkurver for *Selenastrum capricornutum* i ulike konsentrasjoner av totalavløp uke 9-2000

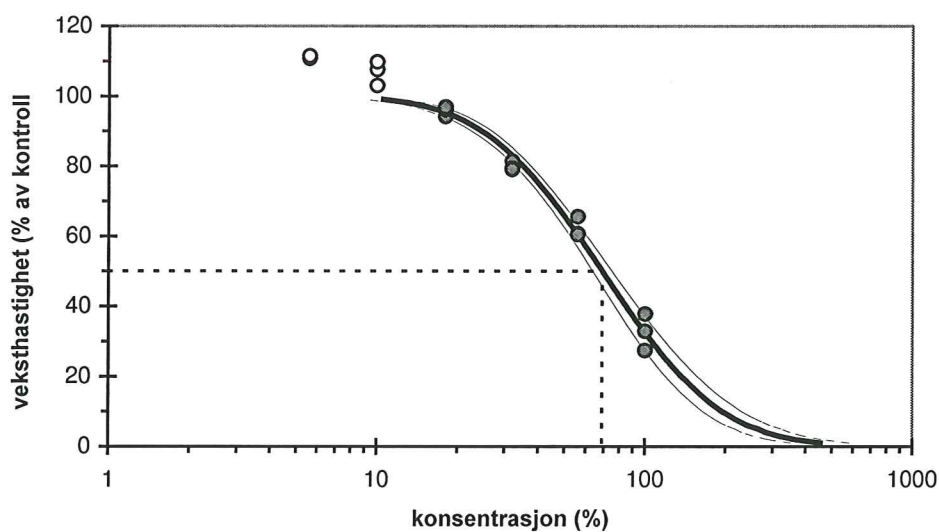
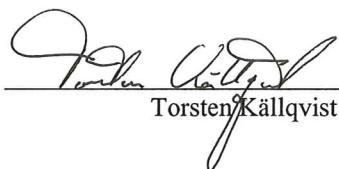


Fig. 2. Effekt av totalavløp 9-2000 på veksthastigheten til *Selenastrum capricornutum*.

Oslo 13.03.00

Utført av: Torsten Källqvist

Testansvarlig:



Torsten Källqvist

### 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  
 COMPOUND: Totalavløp 9-2000  
 TEST ALGA: *Selenastrum capricornutum*  
 INOCULUM: 5,40 mill. cells/l

Date: 8.3.00  
 Lab. code: B390/2  
 Medium: ISO 8692

	Hours:	Day 1	Day 2	Day 3	Area	Area %	G. rate	G. rate %
Conc.	%	25,5 mill/l	50 mill/l	73 mill./l				
5,6	"	40,0	179	1130	17921	173	1,76	111
5,6	"	44,0	179	1090	17561	170	1,74	111
5,6	"	50,0	193	1130	18503	179	1,76	111
10	"	43,0	162	936	15361	148	1,69	107
10	"	53,0	172	1042	17068	165	1,73	110
10	"	53,0	144	754	13091	126	1,62	103
18	"	39,0	96	492	8588	83	1,48	94
18	"	36,0	93	540	8993	87	1,51	96
18	"	49,0	97	561	9655	93	1,53	97
32	"	31,0	61	267	4969	48	1,28	81
32	"	33,0	65	243	4838	47	1,25	79
32	"	37,0	63	239	4844	47	1,25	79
56	"	31	36	99	2443	24	0,96	61
56	"	34	38	98	2554	25	0,95	60
56	"	37	39	125	2963	29	1,03	66
100	"	36	27	20	1446	14	0,43	27
100	"	37	25	26	1492	14	0,52	33
100	"	41	30	33	1792	17	0,60	38
0	"							
0	"							
Control		22,0	131	771	12202	118	1,63	103
		18,0	86	544	8423	81	1,52	96
		18,0	101	640	9883	96	1,57	100
		22,0	87	508	8133	79	1,49	95
		26,0	131	832	13004	126	1,66	105
		19,0	101	687	10449	101	1,59	101

## MEAN VALUES

%

5,60 Mv.	44,67	183,67	1116,67	17995	173,88	1,75	111,17
St. d.	4,11	6,60	18,86	388	3,75	0,01	0,35
10,00 Mv.	49,67	159,33	910,67	15173	146,61	1,68	106,73
St. d.	4,71	11,59	118,93	1629	15,74	0,04	2,81
18,00 Mv.	41,33	95,33	531,00	9079	87,72	1,51	95,64
St. d.	5,56	1,70	28,88	440	4,25	0,02	1,15
32,00 Mv.	33,67	63,00	249,67	4884	47,19	1,26	79,91
St. d.	2,49	1,63	12,36	60	0,58	0,02	1,02
56,00 Mv.	34,00	37,67	107,33	2654	25,64	0,98	62,20
St. d.	2,45	1,25	12,50	224	2,16	0,04	2,34
100,00 Mv.	38,00	27,33	26,33	1577	15,23	0,51	32,60
St. d.	2,16	2,05	5,31	153	1,48	0,07	4,26
Mv.	0,00	0,00	0,00	0	0,00	0,00	0,00
St. d.	0,00	0,00	0,00	0	0,00	0,00	0,00
Control Mv.	20,83	106,17	663,67	10349	100,00	1,58	100,00
St. d.	2,85	18,53	115,12	1795	17,34	0,06	3,67
Coefficient of variation in controls (%):				17,34		3,67	

# TESTRAPPORT

## Akutt toksisitet

### *Daphnia magna*

NIVA metode K9

**Teststoff:** Totalavløp uke 8 - 2000  
**Kunde:** Alpharma  
**Adresse:** Postboks 158 Skøyen  
0212 Oslo

**Lab. kode:** B390/1  
**Prøve mottatt:** 29.02.2000

**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** 07.03- 09.03.2000

**Forbehandling av prøve** Luftet i 1 time, tilsatt ISO løsninger

**Fortynningsmedium** ISO

**Testkonsentrasjoner** 5.6, 10, 18, 32, 56, 100%

**Antall enheter** 3 kar for hver konsentrasjon, med 6-8 dyr pr. kar.

**Testbeholdere** petriskåler med ca. 40 ml medium

**Temperatur** 19.5 – 19.6°C

**pH i kontroll** Start: 7.8 Slutt: 8.0

**pH i høyeste kons.** Start: 7.8 Slutt: 8.3

**Oksygenmetning, 48 t** Kontroll: 8.67 ppm 100% kons.: 2.48 ppm etter 24 timer

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

Referansestoff: Kaliumdikromat: 24t EC<sub>50</sub> = 0.98 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	%	74	-	60	74	-	60

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

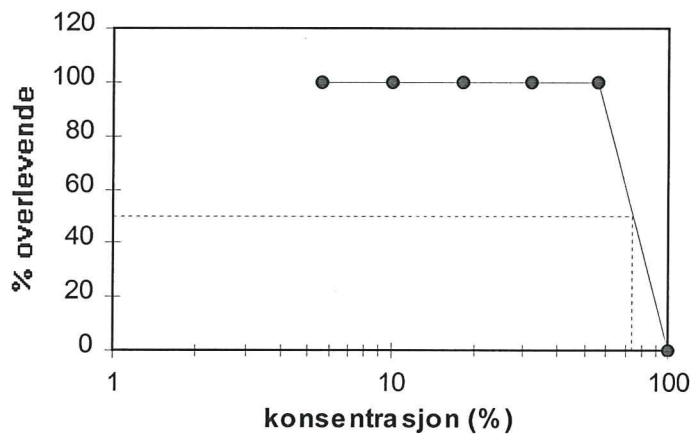
**Kommentar:** P.g.a høyt oksygenforbruk var konsentrasjonen i 100% avløpsvann etter 24 timer 2.48 mg. Dette er over minstekravet (2mg/l) men kan ha bidratt til dødelighet.

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

Konsentrasjon	Antall dyr	Immobiliserte 24 tim.	Immobiliserte 48 tim.	pH start	pH slutt	O <sub>2</sub>
5,6%	21	0	0	7,8	8,0	8,67 (48t)
10%	21	0	0	7,9	8,1	8,42 (48t)
18%	21	0	1	7,9	8,2	8,26 (48t)
32%	21	0	0	8,0	8,3	7,96 (48t)
56%	21	0	0	8,0	8,3	5,35 (48t)
100%	21	21	21	7,8	8,3	2,48 (24t)
Kontroll	21	0	0	7,8	8,0	8,83 (48t)

Observerte immobiliserte *Daphnia magna* etter 24 og 48 timer i kontroller og ulike konsentrasjoner av totalavløp uke 8 - 2000.

Fig. 1. Effekt av totalavløp uke 8 - 2000 på overlevelse av *Daphnia magna* etter 24 timer.



Oslo, 10.03.00

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.

# TESTRAPPORT

## Akutt toksisitet *Daphnia magna*

NIVA metode K9

**Teststoff:** Totalavløp uke 9 - 2000  
**Kunde:** Alpharma  
**Adresse:** Postboks 158 Skøyen  
 0212 Oslo

**Lab. kode:** B390/2  
**Prøve mottatt:** 07.03.2000

**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 næringssaltløsning. Alder ved teststart < 24 timer.  
**Testperiode** 07.03- 09.03.2000  
**Forbehandling av prøve** Luftet i 1 time, tilsatt ISO løsninger  
**Fortynningsmedium** ISO  
**Testkonsentrasjoner** 5,6, 10, 18, 32, 56, 100%  
**Antall enheter** 3 kar for hver konsentrasjon, med 6-8 dyr pr. kar.  
**Testbeholdere** petriskåler med ca. 40 ml medium  
**Temperatur** 19.5 – 19.6°C  
**pH i kontroll** Start: 7.8 Slutt: 8.0  
**pH i høyeste kons.** Start: 7.8 Slutt: 8.3  
**Oksygenmetning, 48 t** Kontroll: 8.67 ppm 100% kons.: 2.43 ppm etter 24 timer  
**Beregning av EC<sub>50</sub> \*** Manuell beregning

Referankestoff: Kaliumdikromat: 24t EC<sub>50</sub> = 0.98 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	%	71	-	56	71	-	56

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

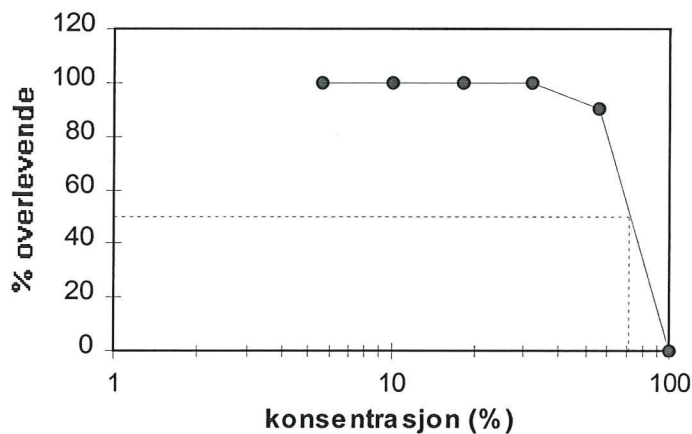
**Kommentar:** P.g.a høyt oksygenforbruk var konsentrasjonen i 100% avløpsvann etter 24 timer 2.43 mg/l. Dette er over minstekravet (2mg/l) men kan ha bidratt til dødelighet.

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

Konsentrasjon	Antall dyr	Immobiliserte 24 tim.	Immobiliserte 48 tim.	pH start	pH slutt	O <sub>2</sub>
5,6%	21	0	0	7,9	8,0	8,75 (48t)
10%	21	0	0	7,9	8,1	8,54 (48t)
18%	20	0	1	7,9	8,1	8,42 (48t)
32%	21	0	0	8,0	8,2	7,87 (48t)
56%	21	2	2	7,9	8,2	6,91 (48t)
100%	21	21	21	7,9	8,3	2,43 (24t)
Kontroll	21	0	0	7,8	8,0	8,83 (48t)

Observerte immobiliserte *Daphnia magna* etter 24 og 48 timer i kontroller og ulike konsentrasjoner av totalavløp uke 9 - 2000.

Fig. 1. Effekt av totalavløp uke 9 - 2000 på overlevelse av *Daphnia magna* etter 24 timer.



Oslo, 10.03.00

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 B.**

Testrapporter – Bioakkumuleringspotensiale

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

<b>Test komponent:</b>	<b>Avløpsvann uke 8-2000</b>	<b>Lab kode:</b>	<b>B 390/1</b>
<b>Oppdragsgiver:</b>	<b>Alpharma</b>	<b>Prøve mottatt:</b>	<b>290200</b>
<b>Adresse:</b>	<b>P.B 158, Skøyen, 0212 Oslo</b>	<b>Test periode:</b>	<b>mars 00</b>

### Bestemmelse av potensielt bioakkumulerbart materiale i avløpsvann.

Potensielt bioakkumulerbart materiale skulle bestemmes i en avløpsvannprøve i et surt ekstrakt (tynnsjiktskromatografi og fingerprint på gasskromatograf med flamme ionisasjonsdetektor).

Analysemetode:

Prøven ble ekstrahert ved pH 2 og TLC fraksjonert i fire fraksjoner, applikasjonssonen,  $P_{ow} > 10^{5.7}$ ,  $10^{3.8} < P_{ow} < 10^{5.7}$  og  $P_{ow} < 10^{3.8}$ . Resultatene er gjengitt i tabell 1.

Prøven ble ekstrahert ufortynnet. I GC-kromatogrammene er det påvist komponenter i det bioakkumulerbare området beregnet til 16 µg/l for  $\log P_{ow} > 5.7$  (fraksjon 1 + fraksjon 2) og 24 µg/l for  $3.8 < \log P_{ow} < 5.7$  (fraksjon 3).

Surt ekstrakt	Kons. før TLC fraksjonering (µg/l)	Kons. fraksjon 1 ved applikasjonszone TLC (µg/l)	Kons i fraksjon 2, $\log P_{ow} > 5.7$ (µg/l)	Kons i fraksjon 3, $3.8 < \log P_{ow} < 5.7$ (µg/l)	Kons i fraksjon 4, $\log P_{ow} < 3.8$ (µg/l)
B390/1	1200	3.5	0.9	25	48

NIVA 230300

  
 Torgunn Sætre



Vedlegg

## **METODE FOR BESTEMMELSE AV POTENSIELT BIOAKKUMULERBARE SUBSTANSER.**

pH på vannprøven ble justert til ca 2 med 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:

I Fraksjon: Applikasjons sone  
II Fraksjon:  $P_{ow} > 10^{5.7}$   
III Fraksjon:  $10^{3.8} < P_{ow} < 10^{5.7}$   
IV Fraksjon:  $P_{ow} < 10^{3.8}$

Lipofile eller potensielt bioakkumulerbare organiske forbindelser ble bestemt ved tynnsjiktskromatografi av et surt heksan ekstrakt av en vannprøve. Substanser med en fordelingskoeffisient oktanol/vann  $> 10^3$  blir regnet som potensielt bioakkumulerbare. Fraksjonene ble skrapet av tynnsjiktsplaten, tilsatt indre standard og ekstrahert med heksan 2 ganger. Hvert av ekstraktene ble analysert med gasskromatografi med flammeionisasjonsdetektor, GC/FID. Arealet til de enkelte toppene ble relatert til en standard, som ga et mål for mengden organiske kromatograferbare forbindelser. Med kromatograferbare forbindelser menes i dette tilfellet organiske substanser med en molekylvekt opp til ca 500, som kan analyseres gasskromatografisk uten noen form for videre opparbeiding. Ved beregning ble det antatt at de detekterte forbindelsene har samme respons som standarden. Dette er en grov tilnærming, da erfaring har vist at responsen på en FID detektor for ulike organiske forbindelser kan variere med opptil 50 %. Dette betyr at metoden må betraktes som semi kvantitativ. Ved avskraping av tynnsjiktsplatene og ekstraksjon av avskrapet, vil ekstraksjonsutbyttet av de enkelte komponentene variere avhengig av hvor godt de sitter på tynnsjiktsplaten. Blindprøve er kjørt parallelt med prøvene.

Testbetingelser ved GC analysen:

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

Program:

Starttemp. 60 °C, henstand 2 min

Oppvarmingshastighet 5 °C/min

Sluttemp. 280 °C, henstand 8 min.

Injektor temperatur: 260 °C

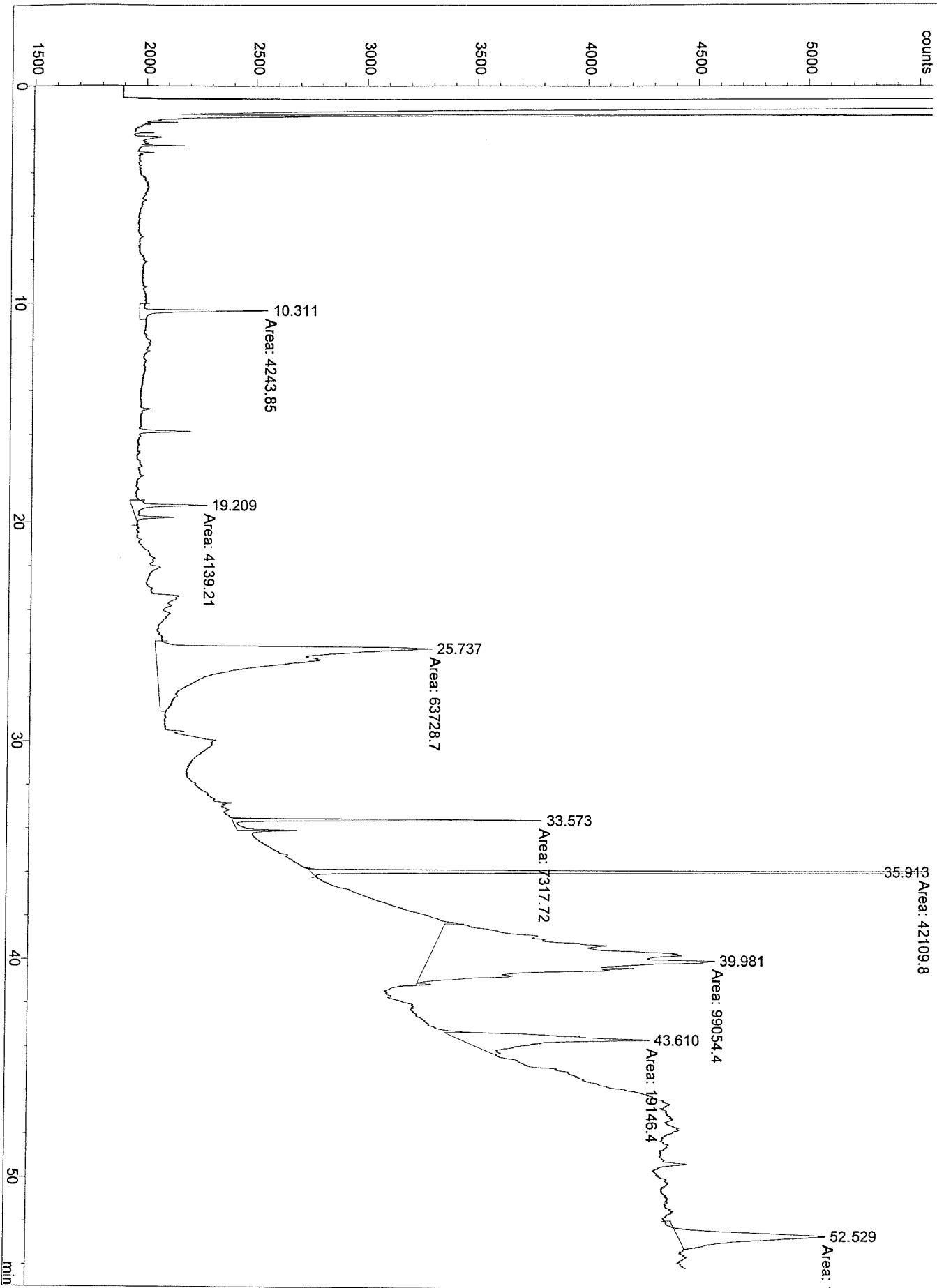
Detektor temperatur: 350 °C

Ytre standard n-C<sub>24</sub>H<sub>50</sub>

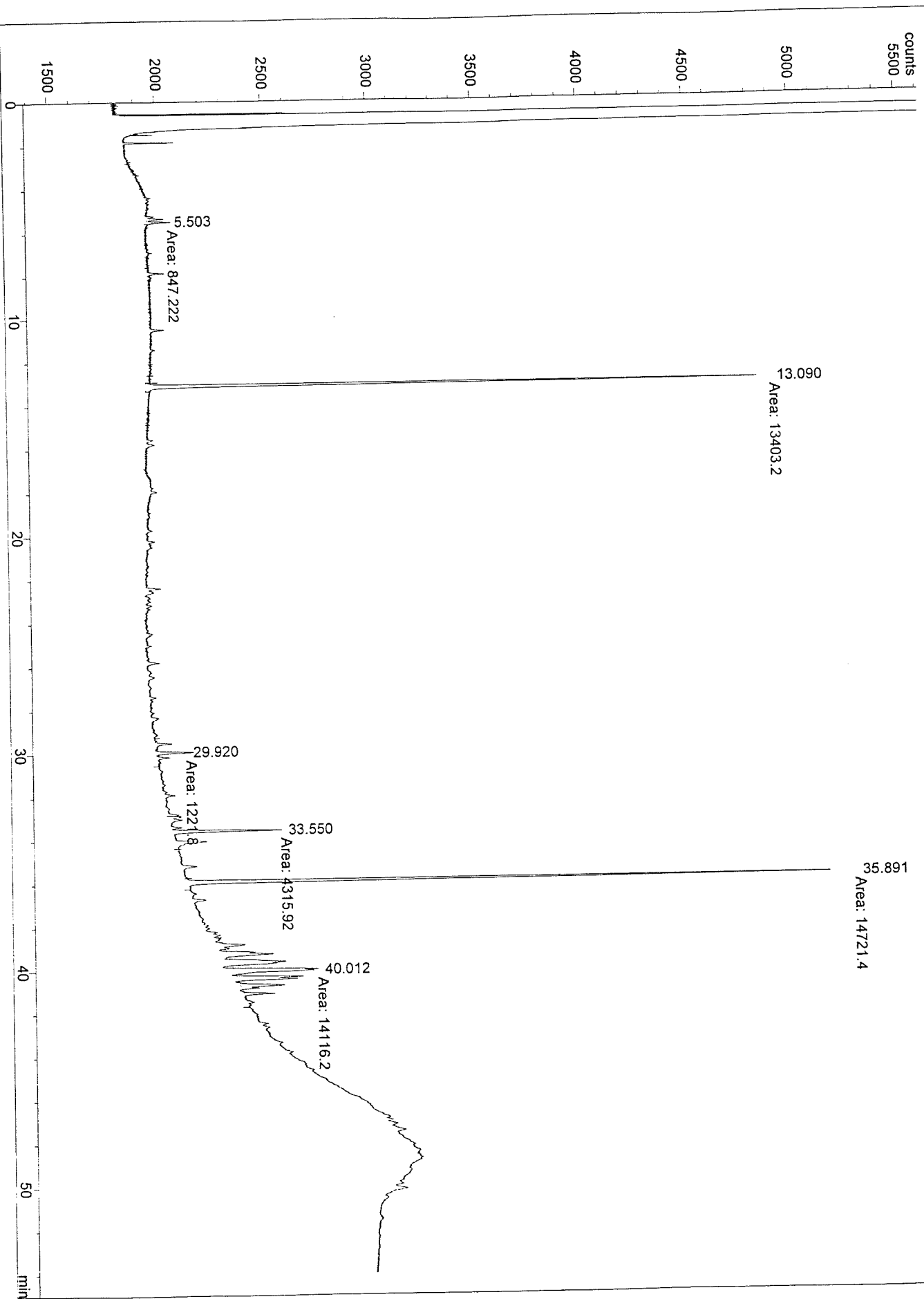
Indre standard n-C<sub>14</sub>H<sub>30</sub>

Referanse: Bengtsson, B-E., Björklund, I og Wahlberg C.; "Effluents from the Chemical Industry - Program for Characterization of Persistence and Effects (The Stork Project)", Ver. 3 1989.

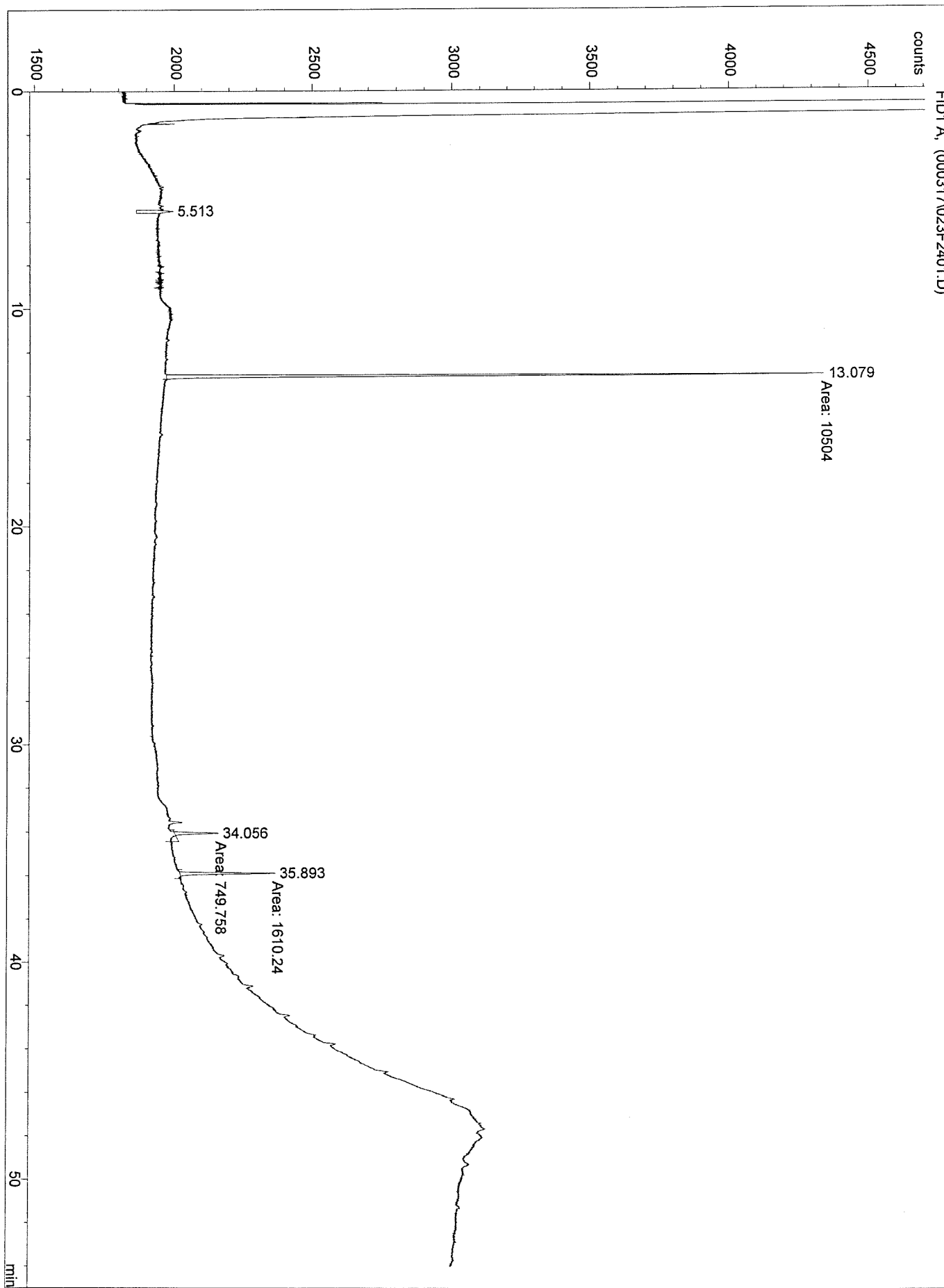
Current Chromatogram(s)  
FID1A\_000317008F0801D)



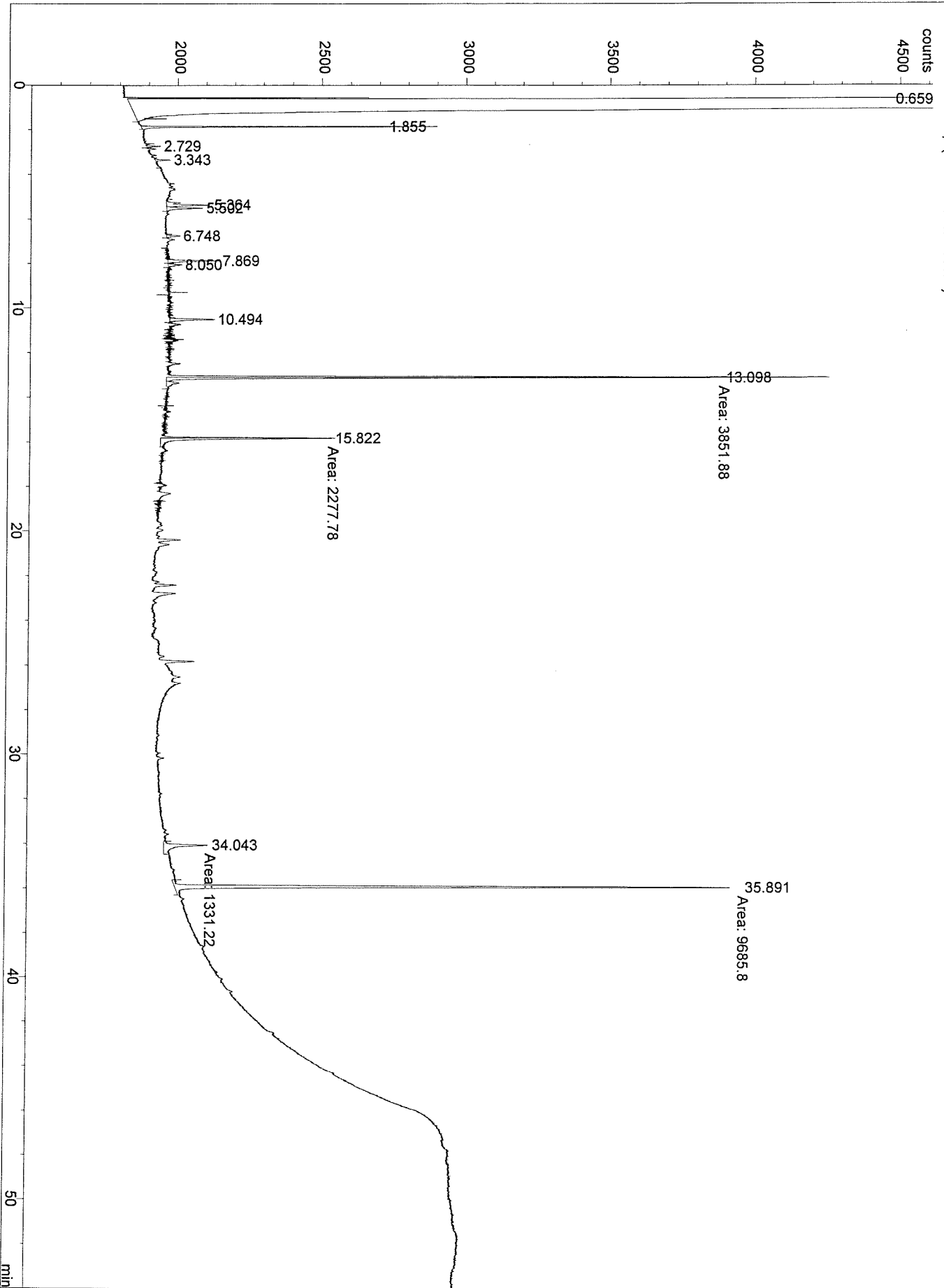
Current Chromatogram (s)  
FID1 A, (000317024F2501.D)

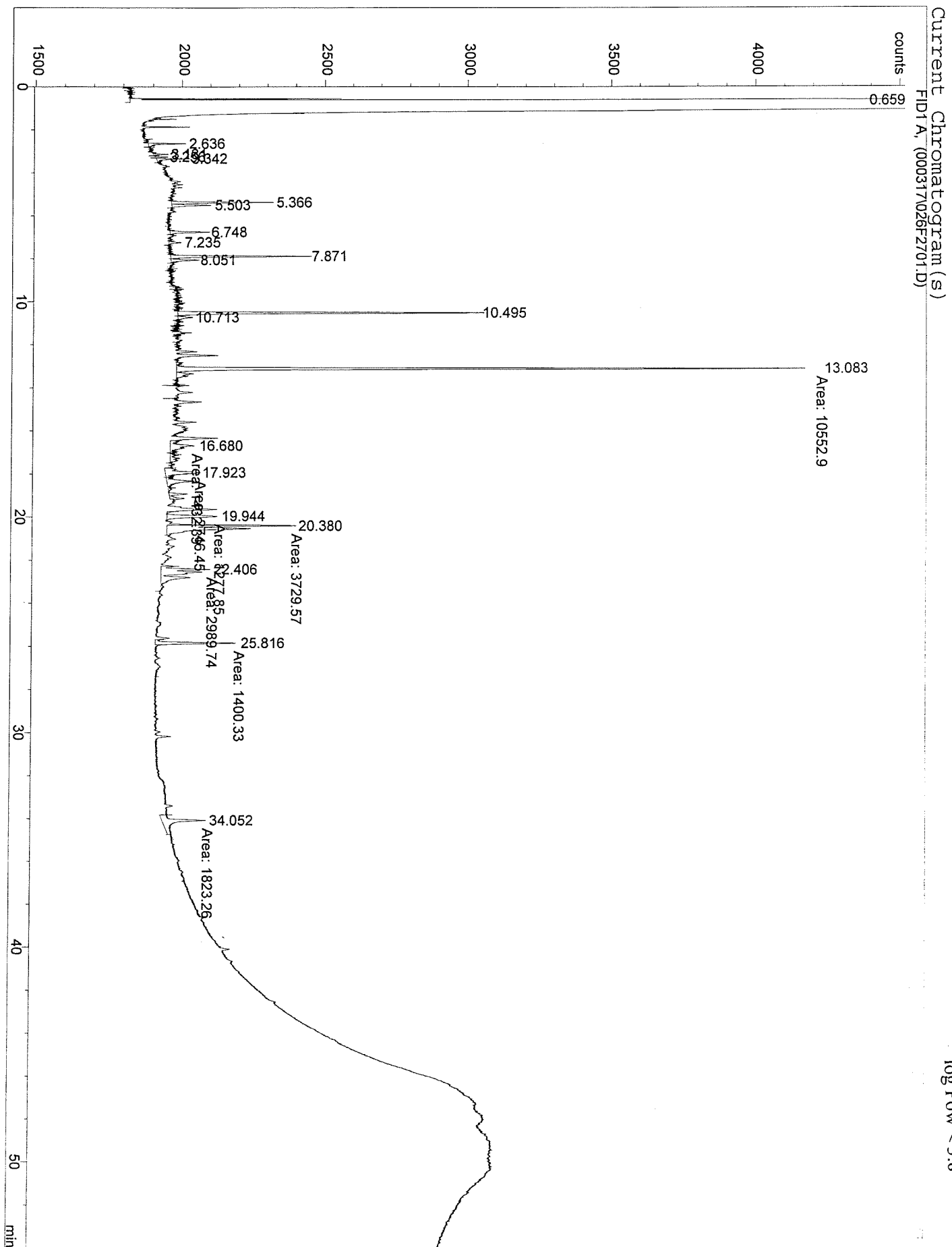


Current Chromatogram (s)  
FID1A, (000317023FZ401.D)

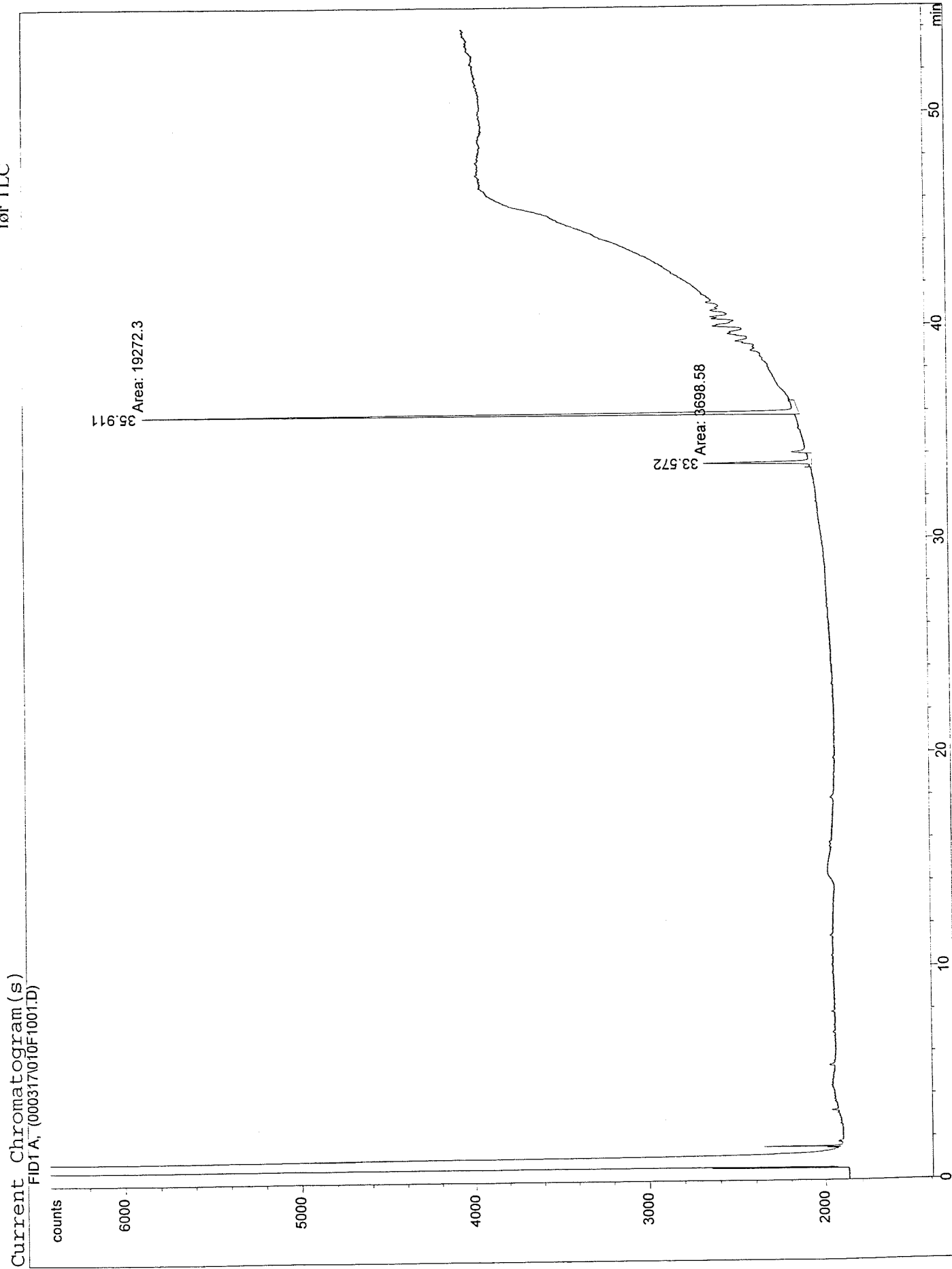


Current Chromatogram (s)  
FID1A\_ (000317025f2601.D)





Blind  
for TLC

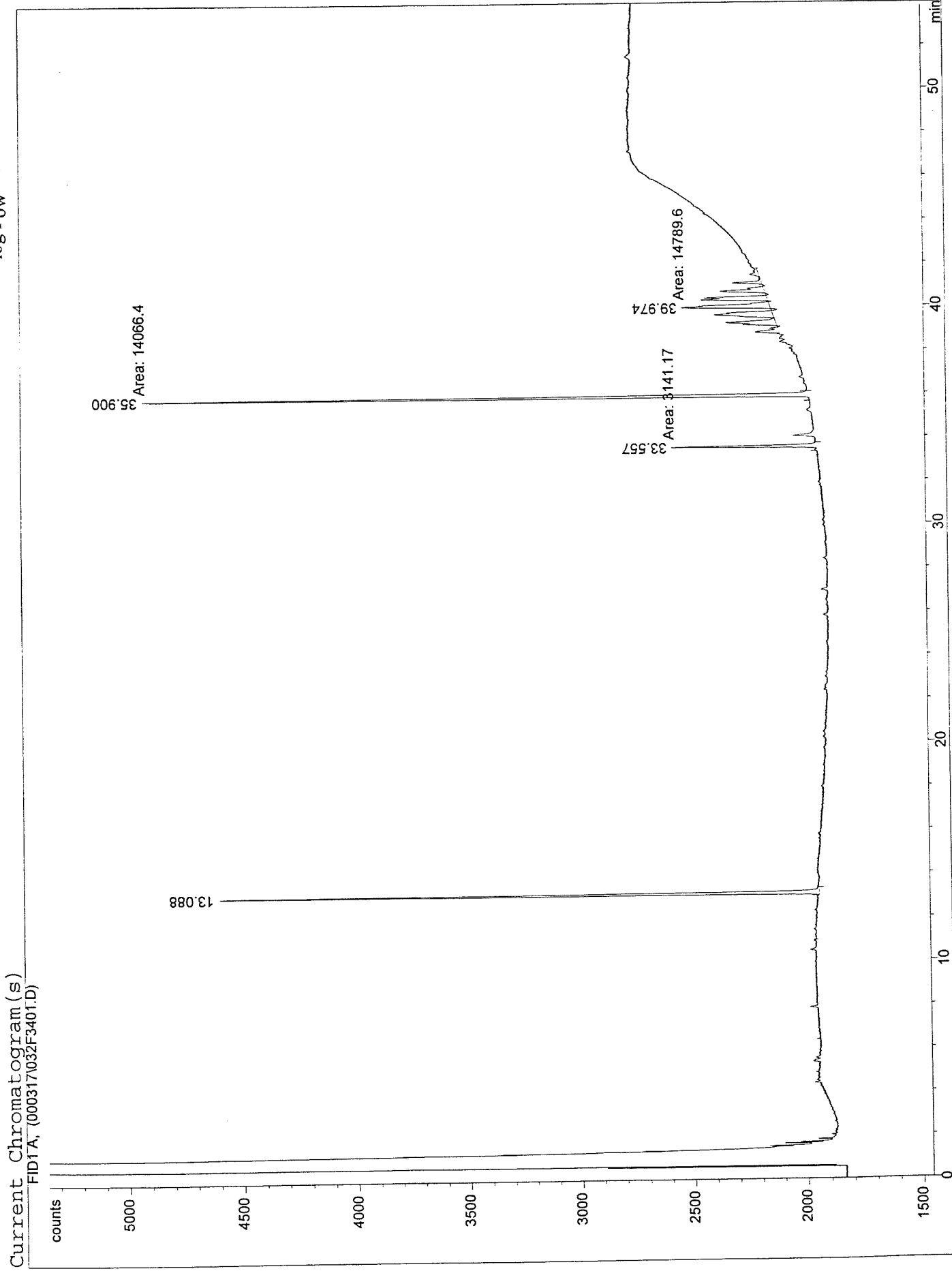


Blind prøve  
Applikasjons sone

Current Chromatogram (s)  
FID1 A, (000317031F3301.D)









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

## Bioakkumulering TLC-GC/FID metode

**Test komponent:** Avløpsvann uke 9-2000 **Lab kode:** B 390/2  
**Oppdragsgiver:** Alpha **Prøve mottatt:** 070300  
**Adresse:** P.B 158, Skøyen, 0212 Oslo **Test periode:** mars 00

### Bestemmelse av potensielt bioakkumulerbart materiale i avløpsvann.

Potensielt bioakkumulerbart materiale skulle bestemmes i en avløpsvannprøve i et surt ekstrakt (tynnsjiktskromatografi og fingerprint på gasskromatograf med flamme ionisasjonsdetektor).

#### Analysemetode:

Prøven er ekstrahert ved pH 2 og TLC fraksjonert i fire fraksjoner, applikasjonssonen,  $P_{OW} > 10^{5.7}$  og  $10^{3.8} < P_{OW} < 10^{5.7}$  og  $P_{OW} < 10^{3.8}$ . Resultatene er gjengitt i tabell 1.

Prøven ble ekstrahert ufortynnet. I GC-kromatogrammene er det påvist komponenter i det bioakkumulerbare området beregnet til 2.6 µg/l for  $\log P_{OW} > 5.7$  (fraksjon 1 + fraksjon 2) og 14 µg/l for  $3.8 < \log P_{OW} < 5.7$  (fraksjon 3).

Surt ekstrakt	Kons. før TLC fraksjonering (µg/l)	Kons. fraksjon 1 ved applikasjonszone TLC (µg/l)	Kons i fraksjon 2, $\log P_{ow} > 5.7$ (µg/l)	Kons i fraksjon 3, $3.8 < \log P_{ow} < 5.7$ (µg/l)	Kons i fraksjon 4, $\log Pow < 3.8$ (µg/l)
B390/2	100	1.9	0.7	14	38

NIVA 230300

  
 Torgunn Sætre

Vedlegg

## **METODE FOR BESTEMMELSE AV POTENSIELT BIOAKKUMULERBARE SUBSTANSER.**

pH på vannprøven ble justert til ca 2 med 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:

I Fraksjon: Applikasjons sone  
II Fraksjon:  $P_{ow} > 10^{5.7}$   
III Fraksjon:  $10^{3.8} < P_{ow} < 10^{5.7}$   
IV Fraksjon:  $P_{ow} < 10^{3.8}$

Lipofile eller potensielt bioakkumulerbare organiske forbindelser ble bestemt ved tynnsjikt-kromatografi av et surt heksan ekstrakt av en vannprøve. Substanser med en fordelingskoeffisient oktanol/vann  $> 10^3$  blir regnet som potensielt bioakkumulerbare. Fraksjonene ble skrapet av tynnsjiktspalten, tilsatt indre standard og ekstrahert med heksan 2 ganger. Hvert av ekstraktene ble analysert med gasskromatografi med flammeionisasjonsdetektor, GC/FID. Arealet til de enkelte toppene ble relatert til en standard, som ga et mål for mengden organiske kromatograferbare forbindelser. Med kromatograferbare forbindelser menes i dette tilfellet organiske substanser med en molekylvekt opp til ca 500, som kan analyseres gasskromatografisk uten noen form for videre opparbeiding. Ved beregning ble det antatt at de detekterte forbindelsene har samme respons som standarden. Dette er en grov tilnærming, da erfaring har vist at responsen på en FID detektor for ulike organiske forbindelser kan variere med opptil 50 %. Dette betyr at metoden må betraktes som semi kvantitativ. Ved avskraping av tynnsjiktspaltene og ekstraksjon av avskrapet, vil ekstraksjonsutbyttet av de enkelte komponentene variere avhengig av hvor godt de sitter på tynnsjiktspalten. Blindprøve er kjørt parallelt med prøvene.

Testbetingelser ved GC analysen:

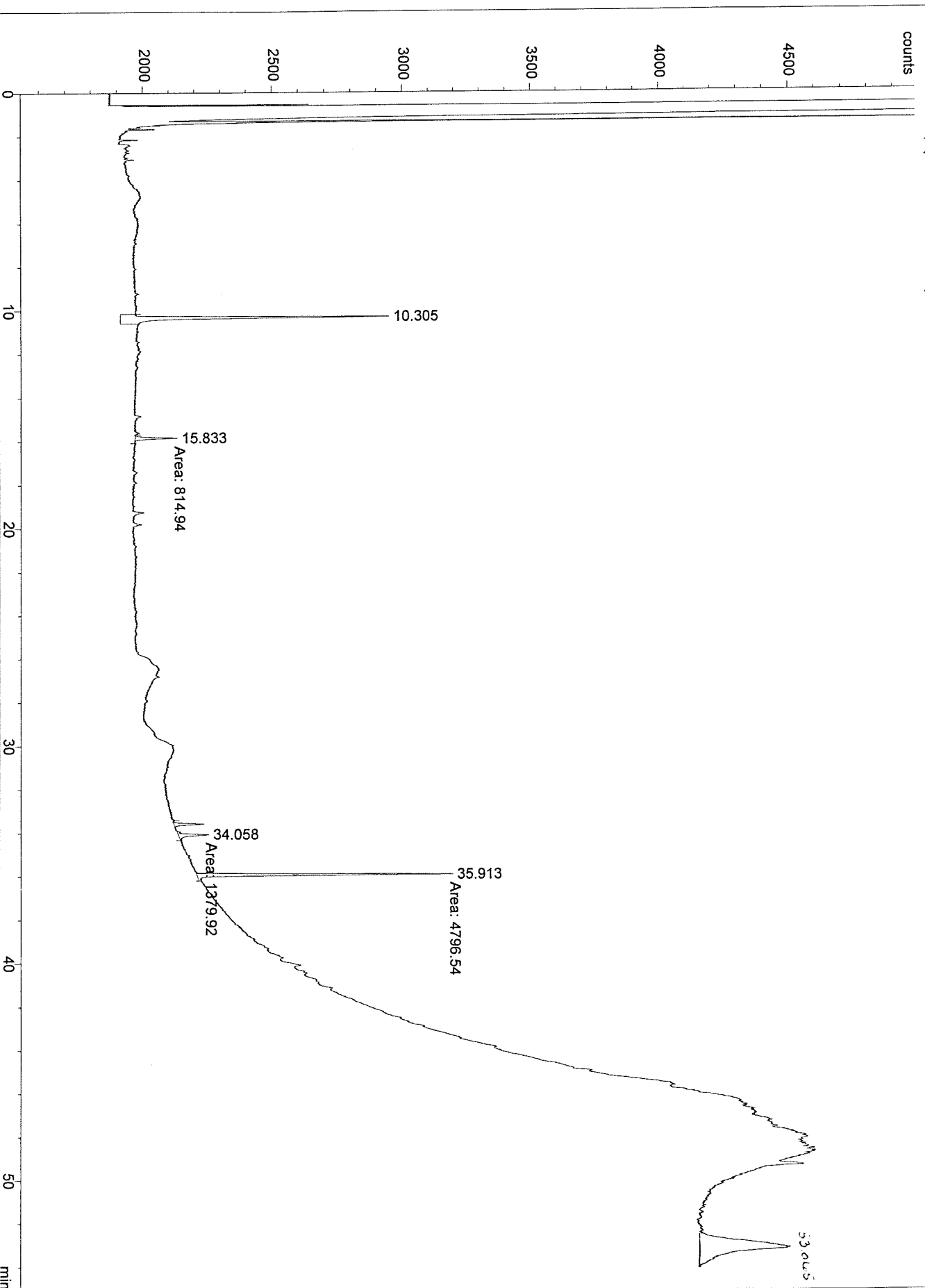
Kappilærkolonne, HP 5  
l = 30 m, i.d. = 0.25 mm

Program:

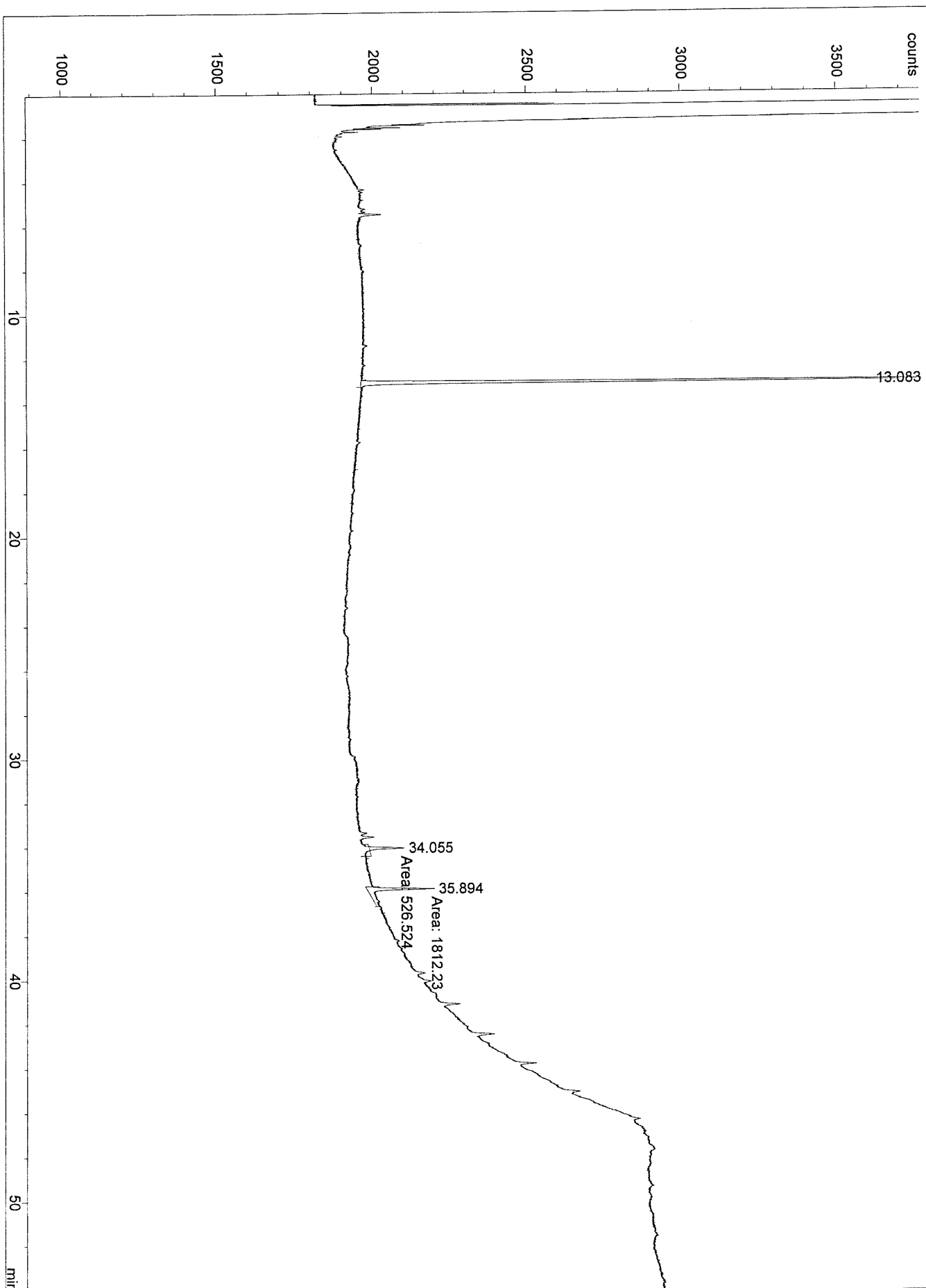
Starttemp. 60 °C, henstand 2 min  
Oppvarmingshastighet 5 °C/min  
Sluttemp. 280 °C, henstand 8 min.  
Injektor temperatur: 260 °C  
Detektor temperatur: 350 °C  
Ytre standard n-C<sub>24</sub>H<sub>50</sub>  
Indre standard n-C<sub>14</sub>H<sub>30</sub>

Referanse: Bengtsson, B-E., Björklund, I og Wahlberg C.; "Effluents from the Chemical Industry - Program for Characterization of Persistence and Effects (The Stork Project)", Ver. 3 1989.

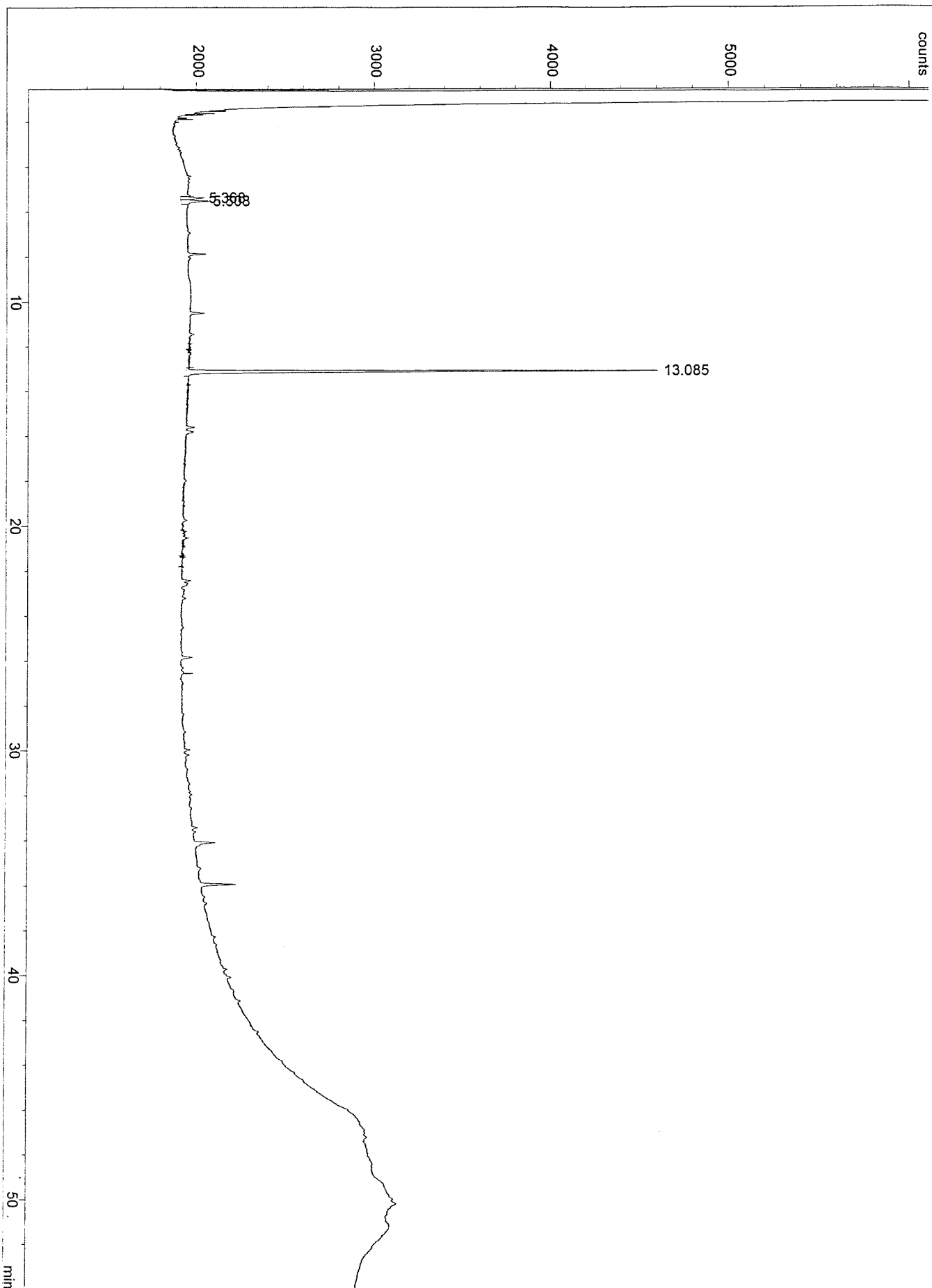
Current Chromatogram (s)  
FID1A\_(000317009F0901.D)



Current Chromatogram (s)  
FID1A\_ (000317027\F2901.D)



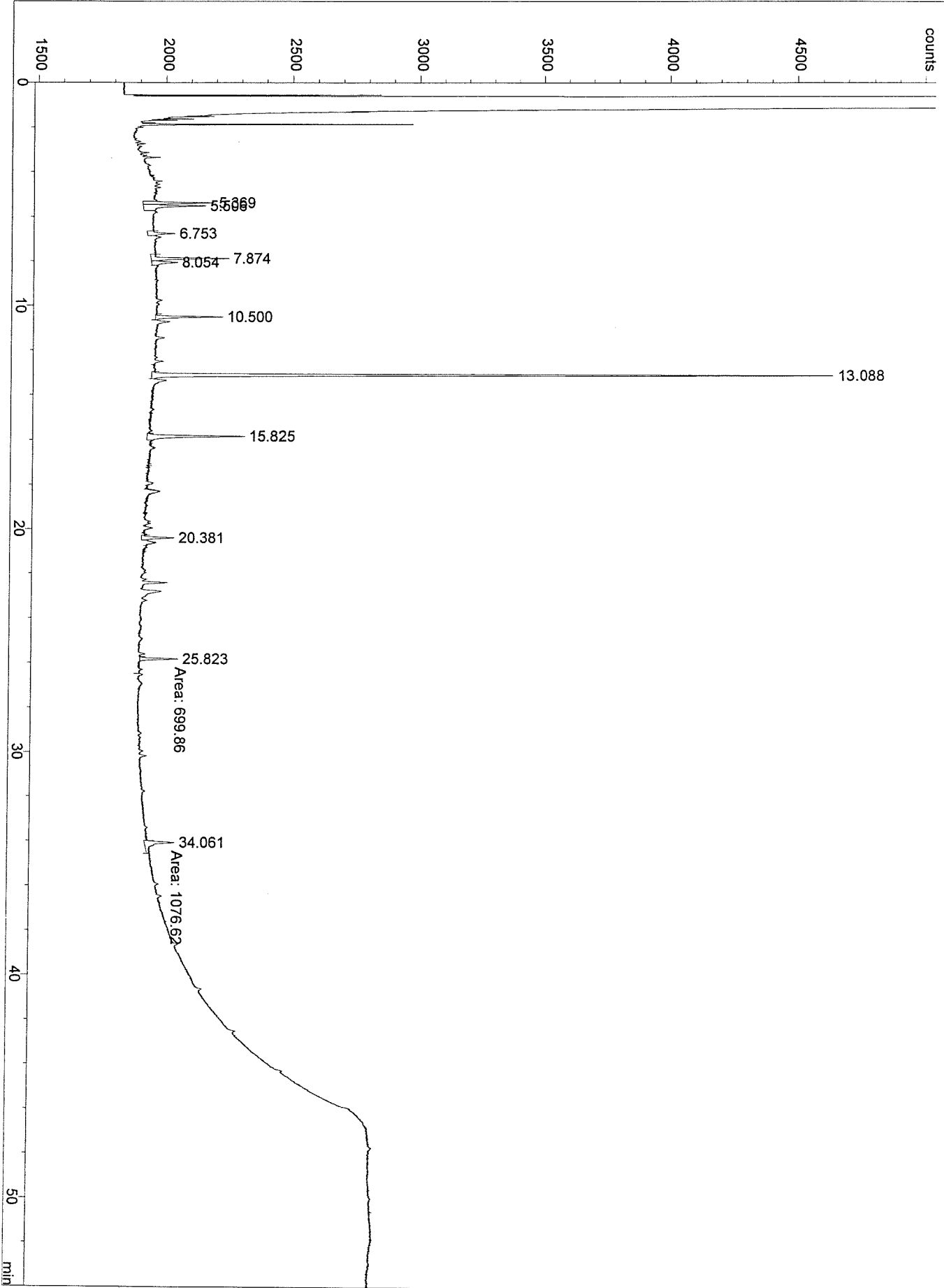
Current Chromatogram (s)  
FID1 A, (000317028F3001.D)



Current Chromatogram (s)

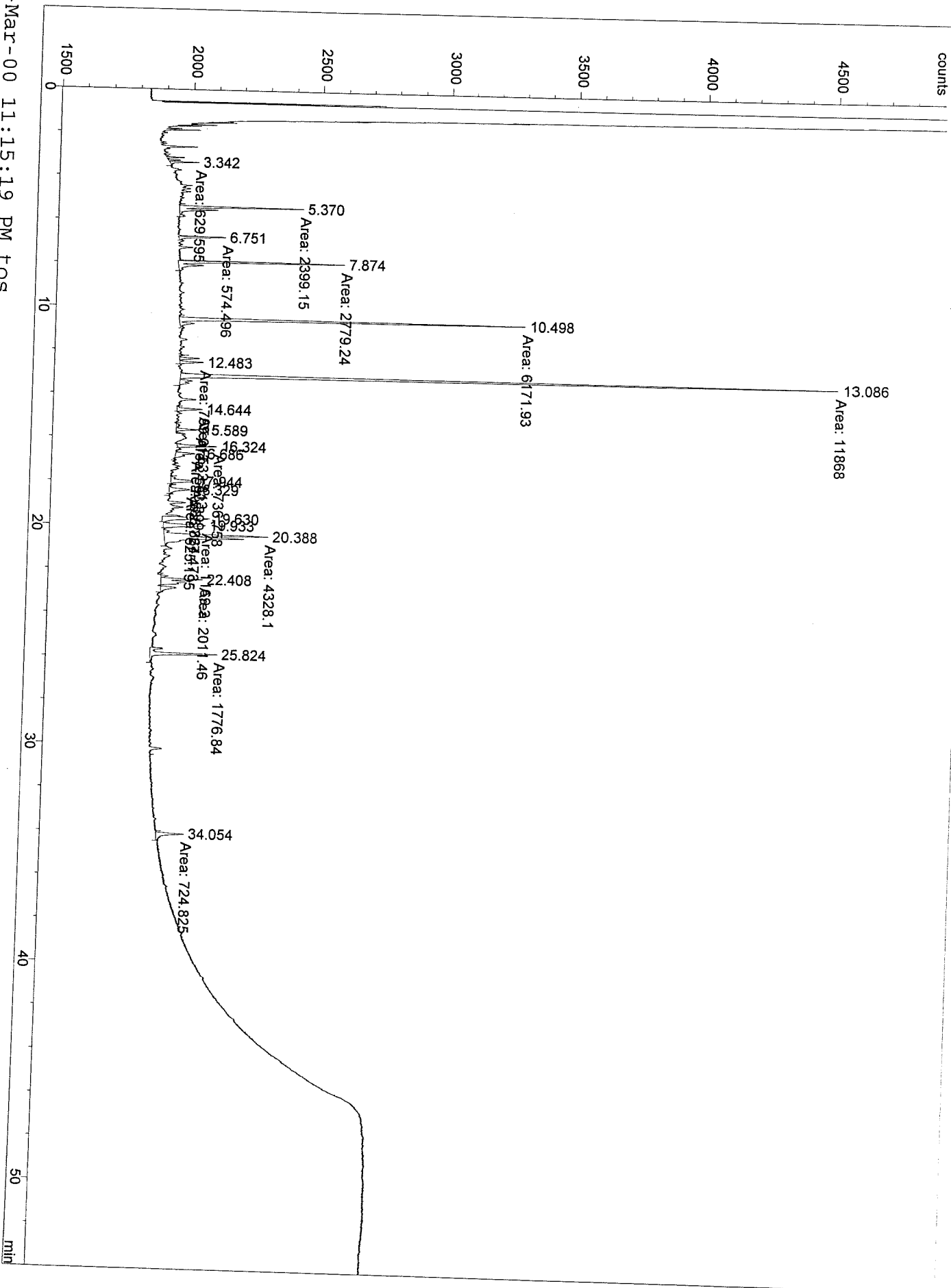
FID1A (000317029F3101.D)

B 390/2  
log 3.8 < log Pow < 5.7



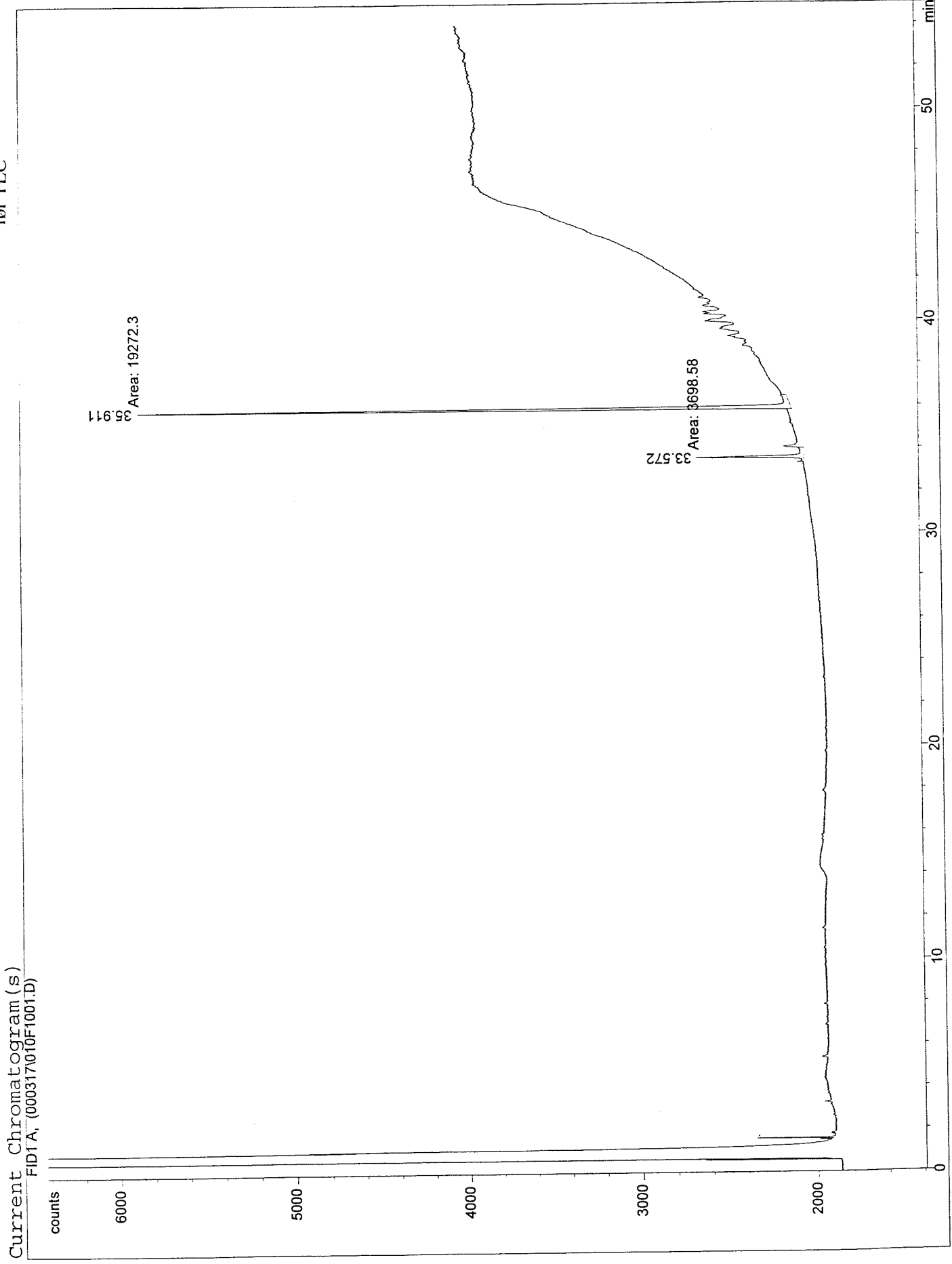
Current Chromatogram(s)  
FID1A\_000317030F3201.D

B 390/2  
log Pow < 3.8





Blind  
for TLC



Blind prøve  
Applikasjons sone

Current Chromatogram(s)  
FID1 A, (000317031F3301.D)

