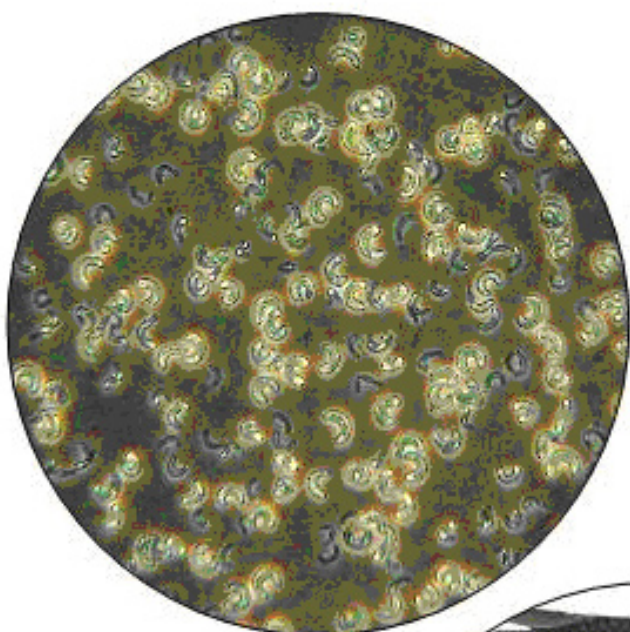


# Økotoksikologisk karakterisering av avløpsvann fra Borregaard Industries Limited, Sarpsborg



**Hovedkontor**

Gaustadalléen 21  
0349 Oslo  
Telefon (47) 22 18 51 00  
Telefax (47) 22 18 52 00  
Internett: www.niva.no

**Sørlandsavdelingen**

Televeien 3  
4879 Grimstad  
Telefon (47) 22 18 51 00  
Telefax (47) 37 04 45 13

**Østlandsavdelingen**

Sandvikaveien 41  
2312 Ottestad  
Telefon (47) 22 18 51 00  
Telefax (47) 62 57 66 53

**Vestlandsavdelingen**

Postboks 2026  
5817 Bergen  
Telefon (47) 2218 51 00  
Telefax (47) 55 23 24 95

**NIVA Midt-Norge**

Postboks 1266  
7462 Trondheim  
Telefon (47) 22 18 51 00  
Telefax (47) 73 54 63 87

Tittel Økotoksikologisk karakterisering av avløpsvann fra Borregaard Industries Limited, Sarpsborg	Løpenr. (for bestilling) 5582-2008	Dato 14.03.2008
	Prosjektnr. Undernr. 27408	Sider Pris 31
Forfatter(e)  Torsten Källqvist Randi Romstad	Fagområde Økotoksikologi	Distribusjon Åpen
	Geografisk område Østfold	Trykket CopyCat

Oppdragsgiver(e) Borregaard Industries Limited	Oppdragsreferanse Lena Ulvan
---	---------------------------------

**Sammendrag**

Avløpsvann fra produksjon av bleket masse ved Borregaards Industries Limited fabrikk i Sarpsborg ble undersøkt i forbindelse med to ulike kampanjer i oktober 2007. Undersøkelsen omfattet kjemiske analyser og toksisitetstester med alger, krepsdyr og egg/embryoer av fisk. Avløpsvannet tatt i forbindelse med en høy kappa kampanje hadde høy pH-verdi (10.9) og høyt innhold av organisk karbon. Giftigheten var moderat i pH-justerte prøver. Dødelighet av egg/embryoer av sebrafisk ble påvist i avløpsvann som ikke var pH-justert, men ved nøytral pH ble det ikke registrert dødelighet eller effekter på utviklingen av larvene. Avløpsvann tatt i forbindelse med acetat-masse produksjon var surt (pH 3.4) med forholdsvis lavt innhold av organisk karbon. Giftigheten var lav i pH-justerte prøver. Risikoen for effekter av utslippet i resipienten (Glomma) er vurdert på grunnlag av observerte effekter i toksisitetstestene og fortynningskapasiteten i elven. Risikoen for toksiske effekter på vannlevende organismer utenfor den umiddelbare blandsonen i resipienten vurderes som ubetydelig.

Fire norske emneord	Fire engelske emneord
1. Industriavløpsvann	1. Industrial wastewater
2. Treforedling	2. Pulp and paper industry
3. Toksisitet	3. Toxicity
4.	4.



Torsten Källqvist  
Prosjektleder



Kevin Thomas  
Forskningsleder



Jarle Nygaard  
Fag- og markedsdirektør

**Økotoksikologisk karakterisering av avløpsvann fra  
Borregaard Industries Limited, Sarpsborg**

## Forord

Borregaard Industries Limited henvendte seg til NIVA i oktober 2007 for å få gjennomført en karakterisering av avløpsvann fra masseproduksjon og blekeri i forbindelse med to ulike kampanjer. Undersøkelsen skulle utføres etter samme program som ved karakterisering av andre avløpsstrømmer fra fabrikken i 2005.

Prøver av avløpsvann ble tatt i oktober 2007. Kjemiske analyser av prøvene ble utført ved NIVAs analyselaboratorium og Analytica AS. Økotoksikologiske tester ble utført ved NIVAs økotoksikologiske laboratorium av Randi Romstad og Torsten Källqvist.

Oslo, 14.03.2008

*Torsten Källqvist*

---

# Innhold

<b>1. Bakgrunn</b>	<b>7</b>
<b>2. Målsetning</b>	<b>7</b>
<b>3. Metodikk</b>	<b>7</b>
3.1 Prøvetaking	7
3.2 Kjemiske analyser	7
3.3 Økotoksikologisk karakterisering av utslippene	8
<b>4. Resultat</b>	<b>9</b>
4.1 Kjemisk karakterisering	9
4.2 Toksisitet	9
<b>5. Diskusjon</b>	<b>10</b>
<b>6. Referanser</b>	<b>13</b>

---

## Sammendrag

Avløpsvann fra produksjon av bleket masse ved Borregaards Industries Limited fabrikk i Sarpsborg ble undersøkt i forbindelse med to ulike kampanjer i oktober 2007. Undersøkelsen omfattet kjemiske analyser og toksisitetstester med alger, krepsdyr og fisk etter samme program som ble benyttet ved tidligere undersøkelser av andre avløpsstrømmer fra fabrikkene.

Avløpsvannet tatt i forbindelse med en høy kappa<sup>1</sup> kampanje hadde høy pH-verdi (10.9) og høyt innhold av organisk karbon. Giftigheten var moderat, og EC50-verdiene, dvs. konsentrasjonene som ga 50 % hemming av algenes vekst og immobilisering av 50 % av vannloppene var hhv. 24 og 60 vol. % i pH-justerte prøver. Det er trolig at innholdet av sink (342 µg/l) har bidratt til de observerte effektene. Dødelighet av egg/embryoer av sebrafisk ble påvist i avløpsvann som ikke var pH-justert, men ved nøytral pH ble det ikke registrert dødelighet eller effekter på utviklingen av larvene.

Avløpsvann tatt i forbindelse med acetat-masse produksjon var surt (pH 3.4) med forholdsvis lavt innhold av organisk karbon. Giftigheten var lav i pH-justerte prøver (EC50 >100 %).

Risikoen for effekter av utslippet i resipienten (Glomma) er vurdert på grunnlag av observerte effekter i toksisitetstestene og fortynningskapasiteten i elven. Risikoen for toksiske effekter på vannlevende organismer utenfor den umiddelbare blandsonen i resipienten vurderes som ubetydelig.

---

<sup>1</sup> Kappa-tallet er relatert til massens lignin-innhold

---

## Summary

Title: Ecotoxicological characterization of wastewater from Borregaard Industries Limited, Sarpsborg.  
Year: 2008

Author: Torsten Källqvist and Randi Romstad

Source: Norwegian Institute for Water Research, ISBN No.: ISBN 82-577-5317-7

Wastewater from the production of bleached pulp at Borregaard Industries Limited in Sarpsborg, S-E Norway was investigated during two different campaigns in October 2007. The investigation included chemical analyses and short-term toxicity tests with algae (*Pseudokirchneriella subcapitata*), crustacean (*Daphnia magna*) and fish eggs (*Danio rerio*).

A wastewater sample taken during a high kappa<sup>2</sup> campaign (16.10.2007), had a high pH (10.9) and high content of total organic carbon (826 mg/l). The toxicity of the wastewater was moderate with EC50-values for algae and *Daphnia* at 24 % and 60 % respectively in pH-adjusted samples. Zinc was identified as a likely main contributor to the observed effects. Lethality of eggs/embryos of zebrafish was observed in wastewater without pH-adjustment. No effects on lethality or development of the embryos were noted after pH-neutralization of the sample.

Wastewater sampled during production of acetate-pulp (29.10.2007) was acidic (pH 3.4) with a comparatively low content of organic carbon. The toxicity to algae, *Daphnia* and fish eggs was low in pH-adjusted samples (EC50>100 %).

The risk of effects in the receiving water (River Glomma) due to the discharge of the wastewater was assessed on the basis of the results of the toxicity tests and the dilution capacity in the recipient. It was concluded that the risk of toxic effects to aquatic organisms is insignificant beyond the immediate mixing zone in the recipient.

---

<sup>2</sup> The kappa-value is related to the lignin content of the pulp

# 1. Bakgrunn

Borregaard Fabrikker i Sarpsborg har et renseanlegg som behandler mesteparten av avløpsvannet fra anlegget før utslipp til Glomma nedstrøms Sarpsfossen. I 2003 ble det gjennomført en økotoksikologisk undersøkelse av innløp og utløp fra renseanlegget (Berge et al. 2003). Noen avløpsstrømmer fra fabrikkområdet går imidlertid utenom renseanlegget direkte til Glomma. Prøver av fem slike direkte utslipp ble karakterisert i 2005. (Källqvist et al. 2005). Denne rapport beskriver en tilsvarende undersøkelse av utslipp til Glomma fra blekeri+TM i forbindelse med to ulike kampanjer i oktober 2007.

## 2. Målsetning

Målsettingen for undersøkelsen var:

- Avklare eventuell giftighet av utslippene slik at risiko for effekter i Glomma kan vurderes
- Kartlegge innhold av aktuelle forurensningskomponenter i de enkelte utslippene

## 3. Metodikk

### 3.1 Prøvetaking

Uttak av prøver fra utslippet fra TM+blekeri ble foretatt av Borregaard Fabrikker. Prøvene ble tatt som øyeblikksprøver 16.10.07 og 29.10.2007 og representerer to ulike kampanjer. Vannføringen i avløpsstrømmene ble registrert i prøvetakingsperioden og er sammenstilt i tabell 1.

Avløpsvann	Vannføring (m <sup>3</sup> /døgn)
TM+blekeri – høy kappa kampanje, 16.10.2007	10080
TM+blekeri – acetat-masse, 29.10.2007	8640

### 3.2 Kjemiske analyser

Prøvene ble analysert for metallene As, Cd, Cr, Cu, Ni, Pb og Zn samt totalt organisk karbon (TOC), pH, konduktivitet og adsorberbart organisk halogen (AOX).



### Oversikt over program for kjemiske analyser

Parameter	Lab/Analysemetode
TOC	NIVA/ Katalytisk oksidasjon 680 °C. Tekmar Dohrmann Apollo 9000 HS TOC-analysator
pH	NIVA/ pH elektrode (NS 4720)
Konduktivitet	NIVA/ WTW inoLab Conductivity Meter (NS-ISO 7888)
Metaller	NIVA / Ionekromatografi-AES (ISO/DIS 11885)
Hg	NIVA/ Amagalmeringsteknikk, FIMS-400 (Norsk Standard NS 4768)
AOX	Analytica / Coulometri. Tørking, stabilisering, fjerning av uorganisk klor, adsorpsjon på aktivt kull, forbrenning av aktivt kull med adsorbent organisk bundet halogen, oppfanget halogen i forbrenningsgassen titreres og konsentrasjonen i prøven bestemmes.

### 3.3 Økotoksikologisk karakterisering av utslippene

Prøver av de ulike utslippene er undersøkt for gifteffekter på organismegruppene alger og krepsdyr. Testene er utført på ferskvannsorganismer i henhold til internasjonale standardmetoder (ISO).

Undersøkelse av veksthemming av alger ble gjort i henhold til ISO 8692 med grønnalgen *Pseudokirchneriella subcapitata* (tidligere benevnt *Selenastrum capricornutum*) Ved testen eksponeres alger i en konsentrasjonsserie av avløpsvannet, fortynnet i et definert vekstmedium. Algenes vekst registreres ved telling hvert døgn i 72 timer. Veksthastigheten beregnes fra økningen i celledetthet i kulturene. Fra resultatene kan veksthemmingen som funksjon av konsentrasjon av avløpsvann beskrives og  $EC_{50}$ -verdien, d.v.s. den konsentrasjon som gir 50 % reduksjon av veksthastigheten i forhold til kontrollkulturer beregnes.

Akutt toksisitet på krepsdyr ble undersøkt i henhold til ISO 6341 med vannloppen *Daphnia magna* som testorganisme. Antallet overlevende og døde (immobiliserte) forsøksdyr registreres i løpet av 48 timers eksponering i en konsentrasjonsserie av avløpsvannet. Fra responskurven som viser prosent mobile forsøksdyr som funksjon av konsentrasjon av avløpsvann kan  $EC_{50}$  for immobilisering av *D. magna* beregnes.

Akutt toksisitet på fisk ble undersøkt med en egg/embryo-test med sebrafisk (*Danio rerio*). Testen er basert på ISO 15088. Egg av sebrafisk ble samlet opp ca. én time etter befruktning og overført til en konsentrasjonsserie av avløpsvannet. Testen ble inkubert ved 26 °C. Eggene ble observert etter 48 timer. På dette tidspunkt skal embryoer normalt være synlige inne i egget. Ved observasjon av hjerteslag kan levende embryoer identifiseres. Dersom dødelighet blir registrert kan LC50-verdien, d.v.s. den konsentrasjon av avløpsvann som dreper 50 % av egg/embryoer etter 48 timers eksponering beregnes. Avvikende utvikling av embryoene i forhold til kontroller blir også notert. Egg/embryotesten er utviklet som et alternativ til tester med 96-timers akutt test med fisk og det er dokumentert at 48h-LC50-verdier fra egg/embryo-testen er korrelert til 96 h-LC50 ved konvensjonelle akutte toksisitetstester med sebrafisk. (Braunbeck et al. 2004).

Begge avløpsvannene hadde en pH-verdi som var utenfor det optimale for mange vannlevende organismer. For å unngå at resultatene av giftighetstestene ble dominert av pH-effekter ble pH i avløpsvannene justert til 7-8, som det optimale området for testorganismene. Testene med sebrafisk

ble utført både med og uten justering av pH for å belyse betydningen av pH-verdien for effektene på utviklingen av fiskembryoene.

## 4. Resultat

### 4.1 Kjemisk karakterisering

Resultatene av de kjemiske analysene er sammenstilt i tabell 2. Avløpsvannet fra 16.10.07 var basisk med et høyt innhold av organisk karbon. Ledningsevnen var 59 mS/m som tilsvarer ca. 400 mg/l av løste mineralsalter. Krom, kobber, nikel og sink ble påvist over deteksjonsgrensen, med høyest konsentrasjon av sink (432 µg/l). Konsentrasjonen av adsorberbart organisk bundet halogen (AOX) var 826 µg/l. Dette er noe lavere i forhold til hva som ble funnet i utløp fra renseanlegget i 2003 (1400 µg/l) (Berge et al. 2003) men høyere enn i prøve fra fellesavløpet i 2005 (229 µg/l) (Källqvist et al. 2005).

Prøven fra 29.10.07 var sur med noe lavere ledningsevne enn prøven fra 16.10. Innholdet av organisk karbon var lavt. Konsentrasjonene av metaller var også lave med 8.9 g/l for sink som høyeste verdi. Konsentrasjonen av AOX var 246 µg/l.

**Tabell 2. pH, elektrolyttisk ledningsevne, totalt organisk karbon, AOX og metaller i avløpsvann.**

Parameter	TM+Blekeri 16.10.07	TM+blekeri 29.10.07
pH	10.87	3.38
Konduktivitet (mS/m)	58.8	42.3
TOC (mg/l)	826	21.2
AOX (mg/l)	0.560	0.246
Cd (µg/l)	<1	<1
Cr (µg/l)	25	<2
Cu (µg/l)	5	3
Hg (µg/l)	<0.050	<0.050
Ni (µg/l)	14	<4
Pb (µg/l)	<10	<10
Zn (µg/l)	342	8.9

### 4.2 Toksisitet

Resultatene av toksisitetstestene er rapportert i vedlegg 1 (alger), vedlegg 2 (*Daphnia*) og vedlegg 3 (Sebrafisk). Beregnede effektkonsentrasjoner er sammenstilt i tabell 3.

**Tabell 3. Effektkonsentrasjoner av avløpsvannprøver fra TM+blekeri på alger, *Daphnia* og egg av sebrafisk.**

Prøve	<i>P. subcapitata</i>		<i>D.magna</i>		<i>Danio rerio</i>	
	EC <sub>10</sub>	EC <sub>50</sub>	EC <sub>10</sub>	EC <sub>50</sub>	LC <sub>50</sub>	LC <sub>50</sub> (ikke pH-just.)
16.10.07	13	24	36	60	>100	66
29.10.07	47	>100	>100	>100	>100	72

#### TM+blekeri 16.10.2007

Avløpsvannet tatt 16.10 var mest giftig for algen *Pseudokirchneriella subcapitata*. Økende veksthemming ble observert i konsentrasjoner over 10 %, og hemmingen var fullstendig ved 56 % konsentrasjon. I testen med *Daphnia magna* ble samtlige forsøksdyr immobilisert i uforynnet avløpsvann men ingen ved konsentrasjonen 36 %. Oksygenkonsentrasjonen målt etter 48 timer var 8.5 mg/l i uforynnet avløpsvann. Det betyr at immobiliseringen ikke skyldes for lavt oksygeninnhold. Testene ble utført med justering av pH og avløpsvannets effekt skyldes derfor heller ikke prøvens høye pH-verdi.

I testen med egg av sebrafisk uten pH-justering øket dødeligheten med økende konsentrasjon av avløpsvann og i uforynnet avløpsvann var dødeligheten 100 % etter 48 timer. I testen av avløpsvann som var justert til pH 7.2 ble det imidlertid ikke observert dødelighet eller andre effekter i uforynnet avløpsvann.

#### TM+blekeri 29.10.2007

Avløpsvannet tatt 29.10 hadde lav toksisk effekt på alger og *Dafnia*, men en svak veksthemming av algene ble observert ved de to høyeste testkonsentrasjonene (56 og 100 %). I uforynnet prøve var veksthemmingen ca. 20 %. Ingen immobilisering av *D. magna* ble observert i løpet av 48 timer i noen av konsentrasjonene, og EC<sub>50</sub> eller EC<sub>10</sub> kan derfor ikke beregnes. Testene ble utført med justering av pH og gjenspeiler derfor ikke eventuelle effekter av prøvens lave pH-verdi.

I testen med egg av sebrafisk uten pH-justering ble det bare registrert 10 % dødelighet opp til 56 % konsentrasjon av avløpsvannet. I uforynnet avløpsvann var dødeligheten 100 % etter 48 timer. I testen av avløpsvann som var justert til pH 7.0 ble det imidlertid ikke observert dødelighet i uforynnet avløpsvann. Det ble notert at embryoene i det uforynnede avløpsvannet var svakere pigmentert i øyne og hud enn normalt.

## 5. Diskusjon

Av de komponenter som er analysert kjemisk er det kun metaller som kan relateres til den observerte toksisiteten. Bortsett fra sink i prøven fra 16.10.07 var metallkonsentrasjonene lavere enn hva som kan forventes å gi toksiske effekter i de testene som er benyttet. For algen *P. subcapitata* er EC<sub>50</sub>-verdien (den konsentrasjon av sink som gir 50 % veksthemming) bestemt til 105 µg/l i det samme testmediet

som ble benyttet som fortynningsmedium i testene av avløpsvann. Ved EC50 for avløpsvannet (24 %) var konsentrasjonen av sink 82 µg/l som altså er bare ca. 20 % lavere enn EC50 for sink i en test av sink alene. Mesteparten av den veksthemmende effekten av avløpsvannet fra 16.10.07 kan altså forklares med innholdet av sink.

I prøven fra 29.10 var innholdet av metaller lavere enn hva som forventes å gi utslag i de benyttede toksisitetstestene. Toksisiteten i denne prøve var lav etter justering av pH, men effekter kunne observeres på alger og fisk i ufortynnet prøve. Redusert pigmentering som ble notert i testen med egg av sebrafisk er tidligere rapportert ved tester av aniliner og fenoler (Schulte 1997).

Avløpsvannets potensial for å gi gifteffekter i en resipient er avhengig av giftigheten og utslippsmengden. Dette kan uttrykkes i form av "Toxicity Emission Factor", TEF. Ved beregning av TEF konverteres først EC<sub>50</sub> eller LC<sub>50</sub>-verdien fra toksisitetstester til "Toxic Units", TU slik at man får en parameter som er proporsjonal mot toksisiteten:

$$TU = \frac{100}{L(E)C_{50}};$$

hvor L(E)C<sub>50</sub> er den laveste EC<sub>50</sub> eller LC<sub>50</sub>-verdien angitt som volum % avløpsvann.

Deretter multipliseres TU med vannføringen i avløpsstrømmen.

$$TEF = TU \times Q;$$

Hvor Q er vannføringen (m<sup>3</sup>/d) (Se tabell 1).

De beregnede TEF-verdiene for de undersøkte avløpsvannene er vist i tabell 4.

**Tabell. 4. Samlet potensiell toksisitet uttrykket som "Toxicity Emission Factor" (TEF) for avløpsvannsprøvene fra TM+blekeri.**

Avløpsvann	Laveste L(E)C <sub>50</sub> (%)	Organisme	TU	TEF
16.10.2007	24	Alger	4.17	42034
29.10.2007	>100	Alger/ <i>Daphnia</i>	<1	<8640

Beregning av TEF er egnet for sammenlikning av ulike utslipp (f. eks. innenfor en bransje) men gir ikke uttrykk for den faktiske risikoen for at utslippet gir toksiske effekter i den aktuelle resipienten. Utslippene fra Borregaard i Sarpsborg går til Glomma, som har en middelvannføring på ca. 700 m<sup>3</sup>/s og en minstevannføring på ca. 300 m<sup>3</sup>/s. Dette gir en meget høy fortykningseffekt på utslippene i resipienten. For eksempel vil fortykningsgraden for utslippet når det er utblandet i hele elveprofilen være mer en 2500 ganger ved minstevannføring i Glomma. I tabell 5 er fortykningsbehovet for å unngå mer enn 10 % effekt på den mest følsomme av de undersøkte organismene (dvs. fortykningen som tilsvarer EC<sub>10</sub>) sammenliknet med fortykningspotensialet for de ulike avløpsstrømmene ved full utblanding i Glomma ved lav vannføring (300 m<sup>3</sup>/s) fremstilt.

**Tabell 5. Fortynningsbehov for å redusere målt toksisk effekt for mest følsomme organisme til 10 % sammenliknet med den reelle fortynningen av avløpsvannene når de er fullt utblandet i Glomma ved lav vannføring (300 m<sup>3</sup>/s)**

Avløpsvann (TM+blekeri)	Laveste L(E)C <sub>10</sub> (%)	Organisme	Fortynningsbehov ved L(E)C <sub>10</sub>	Fortynning ved lav vannføring
16.10.2007	13	Alger	7.7	2571
29.10.2007	47	Alger	2.1	3000

Det fremgår av tabell 5 at den reelle fortynningen (når avløpsstrømmene er helt utblandet i Glomma) er fra ca. 300 til ca. 1500 ganger høyere enn behovet for å unngå mer enn 10 % veksthemming av alger. På grunn av at andre arter enn de som er testet kan være mer følsomme og at effekter ved langtidseksponering (kronisk toksisitet) kan oppstå ved lavere konsentrasjoner enn de som gir akutt toksisitet må man regne med at fortynningsbehovet for unngå alle typer av effekter i resipienten er noe høyere enn hva som er angitt i tabell 5. I følge veileder for Økotoksikologisk undersøkelse av industriavløp (SFT 2000) kan fortynningsbehovet for å unngå langtidseffekter (kroniske gifteffekter) av avløpsvann beregnes ut fra resultat av toksisitetstester ved hjelp av applikasjonsfaktorer. Når det fins data for akutt toksisitet for minst tre organismegrupper (alger, krepsdyr og fisk) antas det ikke være fare for kroniske gifteffekter ved konsentrasjoner av avløpsvann 20 ganger lavere enn laveste EC<sub>50</sub> eller LC<sub>50</sub>-verdi. I tabell 6 er fortynningsbehovet for å unngå kroniske effekter ved langtidseksponering i resipienten beregnet for de to avløpsvannene. Tilsvarende data for utslippet fra hovedrenseanlegget (fra Berge et al. 2003) og fra undersøkelsen av ulike prosessavløp i 2005 (Källqvist et al. 2005) er inkludert til sammenlikning. Beregningene viser at marginen mellom den reelle fortynningen og det beregnede fortynningsbehovet så stor at risikoen for toksiske effekter utenfor den umiddelbare blandsonen i resipienten må regnes som ubetydelig.

De to undersøkte avløpsvannene hadde hhv. høy og lav pH-verdi og høye konsentrasjoner av avløpsvannene vil derfor kunne gi direkte pH-effekter i en resipient med lav bufringskapasitet. Fortynningsbehovet for å unngå slike effekter i Glomma antas imidlertid å være lavere enn hva som er beregnet på grunnlag av toksisitetstestene i tabell 6.

**Tabell 6. Beregnet fortynningsbehov for å beskytte mot kroniske effekter ved langtids-eksponering av avløpsvann fra Borregaard fabrikker sammenliknet med den reelle fortynningen av avløpsvannene når de er fullt utblandet i Glomma ved lav vannføring (300 m<sup>3</sup>/s).**

Avløpsvann	Laveste L(E)C <sub>50</sub> (%)	Organisme	Fortynningsbehov	Fortynning ved lav vannføring
TM+blekeri 16.10.2007	24	Alger	83	2571
TM+blekeri 29.10.2007	>100	Alger	<20	3000
Tømmerrenseri <sup>1</sup>	12	Daphnia	167	304941
Fellesavløp <sup>1</sup>	87	Alger	23	889
Vanillinfabrikken <sup>1</sup>	69	Daphnia	29	11494
Spraytørkanlegg <sup>1</sup>	80	Alger	25	20506
Kokeri, lukket avløp <sup>1</sup>	14	Daphnia	143	42284
Utløp Renseanlegg <sup>2</sup>	40	Fisk	50	1234

<sup>1</sup> Fra Källqvist et al. 2005

<sup>2</sup> Fra Berge et al. 2003

## 6. Referanser

Braunbeck, T., Böttcher, M., Hollert, H., Kosmehl, T., Lammer, E., Leist, E. Rudolf, M. and Seitz, N. 2004: Towards an alternative for the acute fish LC50 test in ceical assessment: The fish embryo toxicity test goes multi-species – an update. *Altex - Alternativen zu Tierexperimenten* 22, 87-102

ISO 1996: "Water Quality - Determination of the inhibition of the motility of *Daphnia magna*" ISO 6341:1996. International Organization for Standardization, Geneva, Switzerland.

ISO, 2004. Water quality- Freshwater algal growth inhibition test with unicellular green algae. ISO 8692:2004. International Organization for Standardization, Geneva, Switzerland.

ISO, 2006. Water quality- determination of the acute toxicity of waste water to zebrafish egg (*Danio rerio*). ISO/DIS 15088. International Organization for Standardization, Geneva, Switzerland.

Källqvist, T., Tobiesen, A. og Romstad, R. 2005. Økotoksikologisk testing av direkteutslipp til Glomma fra Borregaard fabrikker, Sarpsborg. Niva-rapport 5108, 40 2.

Berge, J.A., Källqvist, T., Romstad, R. og Tobiesen, A. 2003: Utslipp fra Borregaard Industries Ltd til Glomma – økotokstologisk karakterisering av avløpsvann og innhold av kobber og halogenforbindelser i Glomma og Hvalerområdet. Niva-rapport 4751, 79 s.

Schulte 1997: Entwicklung und Validierung einer Methode zur Ermittlung der Toxizität von Chemicalien gegenüber Embryonen von *Brachydanio rerio*. Doctoral thesis Mainz: Johannes Gutenberg Universität.

Vedlegg 1.

Toksisitetstester med alger



Norsk Institutt  
for Vannforskning  
Gaustadallen 21  
0349 Oslo  
Tel: 22 18 51 00  
Fax: 22 18 52 00

# TESTRAPPORT

## Alger, veksthemmingstest

### *Pseudokirchneriella* *subcapitata*



NIVA metode K4

**Teststoff:** Avløpsvann Blekeri+TM 16.10.2007      **Lab. kode:** B533/1  
**Kunde:** Borregaard      **Prøve mottatt:** 01.11.2007

**Testmetode:** ISO 8692: Alga growth inhibition test  
**Organisme:** *Pseudokirchneriella subcapitata* NIVA CHL1  
**Testparameter:** Veksthastighet fra start til 73 timer  
**Stamkultur:** Semi-kontinuerlig i 10% Z8 vekstmedium (Staub 1961)  
**Start dato:** 02.11.2007  
**Forbehandling av prøve:** Prøven ble oppbevart ved +5 °C til teststart og filtrert gjennom GF/C glassfiberfilter. pH justert fra 10.8 til 8.0  
**Konsentrasjoner:** 10, 18, 32, 56 og 100 %  
**Test medium:** ISO 8692  
**Inkuberingsutstyr:** Gyngebord  
**Dyrkingsflasker:** 30 ml glass med 12 ml medium  
**Lys:** Ca. 65 mE m<sup>2</sup> s<sup>-1</sup>, kontinuerlig fra dagslys-type lysstoffrør  
**Temperatur:** 19.7 – 20.0 °C  
**pH i kontroll** Start : 8.1 Slutt: 8.0  
**pH i høyeste konsentrasjon** Start : 8.0 Slutt: 7.9  
**Vekstmåling:** Partikkeltelling med Coulter Multisizer og Fluorescens med Cytofluor 2300  
**Beregning av EC<sub>50</sub> \*** Ikke-lineær regresjon (Hill)  
**Beregning av NOEC \*\*** Dunnett's test (p<0.05)

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

Parameter	Enhet	EC <sub>50</sub>	95% konf. int.	EC <sub>20</sub>	95% konf. int.	EC <sub>10</sub>	95% konf. int.
Veksthastighet	%	24	23 - 26	16	14 - 18	13	11 - 14

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

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

**Kommentar:** Veksthemmingen øket med konsentrasjonen av avløpsvann i intervallet 10-56 %. Ved 56 % konsentrasjon var veksthemmingen fullstendig. NOEC<10 %.

Oslo 14.11.2007

Test utført av  
Randi Romstad

Testansvarlig  
Torsten Källqvist



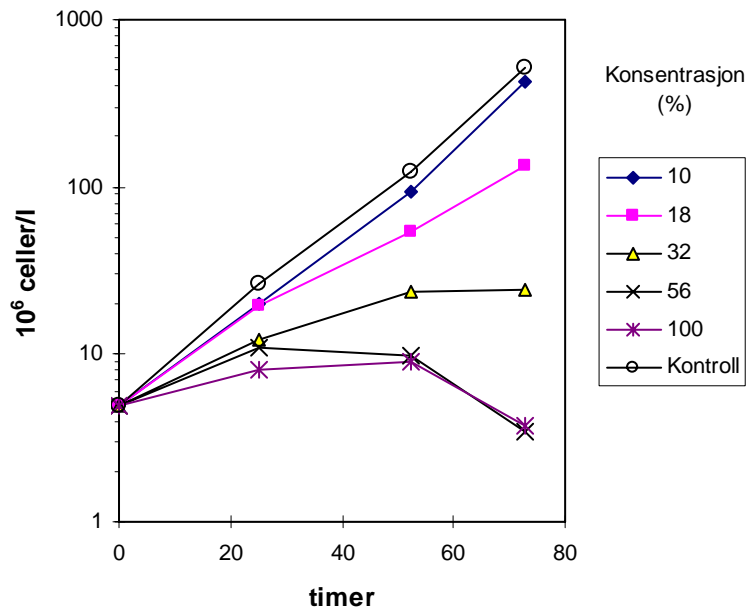


Fig. 1. Vekstkurver for *Pseudokirchneriella subcapitata* i ulike konsentrasjoner av avløpsvann

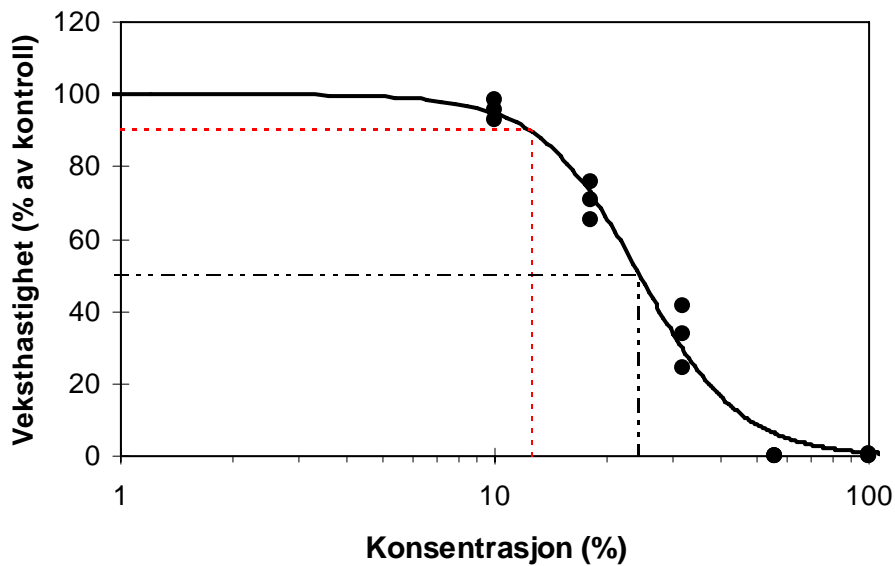


Fig.:2 Effekt av avløpsvann på veksthastigheten til *Pseudokirchneriella subcapitata*. Stiplede linjer viser (fra venstre) EC<sub>10</sub> og EC<sub>50</sub>.

**Referanser:**

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.

## Celletetthet målt i kulturer

	Dag 0	Dag 1	Dag 2	Dag 3	V-hast	V-hast %
Timer:	0	25	53	73	d <sup>-1</sup>	av kontroll
Kons. (%)	10 <sup>6</sup>	10 <sup>6</sup>	10 <sup>6</sup>	10 <sup>6</sup>		
10	5	19	90	368	1.41	93
10	5	21	95	480	1.50	99
10	5	20	96	422	1.46	96
18	5	23	60	132	1.08	71
18	5	15	48	102	0.99	65
18	5	20	56	166	1.15	76
32	5	6	24	24	0.51	34
32	5	13	22	15	0.37	24
32	5	17	26	34	0.63	41
56	5	13	10	4	0.00	0
56	5	11	10	3	0.00	0
56	5	9	10	4	0.00	0
100	5	6	9	5	0.01	1
100	5	9	9	3	0.00	0
100	5	9	9	4	0.00	0
Kontroll	5	17	111	494	1.51	99
	5	27	119	518	1.53	100
	5	28	143	525	1.53	100
	5	74*	130	537	1.54	101
	5	34	114	500	1.51	99
	5	26	119	516	1.52	100

## MIDDELVERDIER

%						
10	Mv.	20	93	423	1.46	6
	St. d.	1.00	3.21	56.07	0.04	2.87
18	Mv.	19	55	133	1.07	706
	St. d.	4.04	6.11	31.64	0.08	5.20
32	Mv.	12	24	24	0.50	336
	St. d.	5.35	2.00	9.28	0.13	8.52
56	Mv.	10	9.8	3.4	0.00	0.00
	St. d.	2.10	0.26	0.30	0.00	0.00
100	Mv.	8.1	9.0	3.8	0.00	0.20
	St. d.	1.84	0.00	1.29	0.01	0.35
Kontroll	Mv.	27	123	514	1.52	100
	St. d.	7.1	13	18	0.01	0.74
	Variasjonskoeffisient i kontroller (%)				2.7	

\*Forkastet verdi

**pH-verdier**

<b>Konsentrasjon.</b>	<b>Start</b>	<b>73 timer</b>
Kontroll	8.11	8.02
10 %	8.02	7.67
18 %	8.00	7.68
32 %	8.03	7.79
56 %	8.00	7.88
100 %	8.01	7.84



Norsk Institutt  
for Vannforskning  
Gaustadallen 21  
0349 Oslo  
Tel: 22 18 51 00  
Fax: 22 18 52 00

# TESTRAPPORT

## Alger, veksthemmingstest

### *Pseudokirchneriella* *subcapitata*



NIVA metode K4

**Teststoff:** Avløpsvann Blekeri+TM 29.10.2007      **Lab. kode:** B533/2  
**Kunde:** Borregaard      **Prøve mottatt:** 01.11.2007

**Testmetode:** ISO 8692: Alga growth inhibition test  
**Organisme:** *Pseudokirchneriella subcapitata* NIVA CHL1  
**Testparameter:** Veksthastighet fra start til 73 timer  
**Stamkultur:** Semi-kontinuerlig i 10% Z8 vekstmedium (Staub 1961)  
**Start dato:** 02.11.2007  
**Forbehandling av prøve:** Prøven ble oppbevart ved +5 °C til teststart og filtrert gjennom GF/C glassfiberfilter  
**Konsentrasjoner:** 10, 18, 56 og 100 %  
**Test medium:** ISO 8692  
**Inkuberingsutstyr:** Gyngebord  
**Dyrkingsflasker:** 100 ml glass med 12 ml medium  
**Lys:** Ca. 65 mE m<sup>2</sup> s<sup>-1</sup>, kontinuerlig fra dagslys-type lysstoffrør  
**Temperatur:** 19.7 – 20.0 °C  
**pH i kontroll** Start : 6.0 Slutt: 7.4  
**pH i høyeste konsentrasjon** Start : 8.5 Slutt: 8.1  
**Vekstmåling:** Partikkeltelling med Coulter Multisizer og Fluorescens med Cytofluor 2300  
**Beregning av EC<sub>50</sub> \*** Ikke-lineær regresjon (Hill)  
**Beregning av NOEC \*\*** Dunnett's test (p<0.05)

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

Parameter	Enhet	EC <sub>50</sub>	95% konf. int.	EC <sub>20</sub>	95% konf. int.	EC <sub>10</sub>	95% konf. int.
Veksthastighet	%	>100	-	89	78 - 104	47	34 - 60

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

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

**Kommentar:** En svak veksthemmende effekt ble observert ved konsentrasjoner over 18 %. Hemmingen av algenes veksthastighet i uførtynnet prøve var ca. 20 %. NOEC=18 %.

Oslo 14.11.2007

Test utført av  
Randi Romstad

Testansvarlig  
Torsten Källqvist

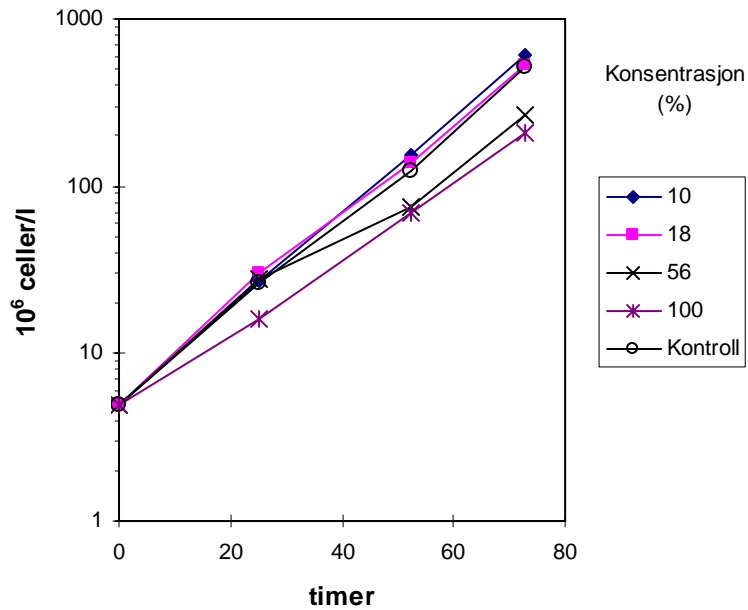


Fig. 1. Vekstkurver for *Pseudokirchneriella subcapitata* i ulike konsentrasjoner av avløpsvann

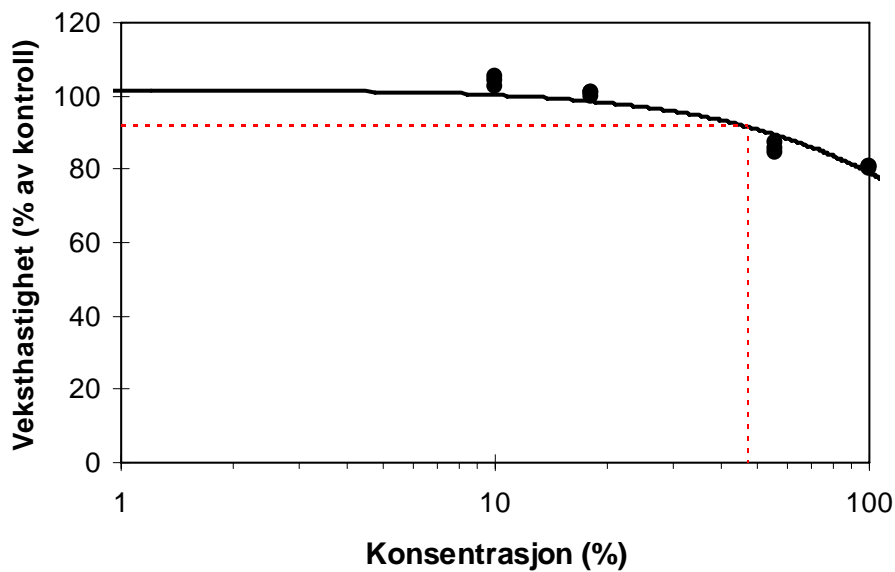


Fig.:2 Effekt av avløpsvann på veksthastigheten til *Pseudokirchneriella subcapitata*. Stiplede linjer viser (fra venstre) EC<sub>10</sub> og EC<sub>50</sub>.

#### Referanser:

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.

## Celletetthet I kulturer

	Dag 0	Dag 1	Dag 2	Dag 3	V-hast	V-hast %
Timer:	0	25	53	73	d <sup>-1</sup>	av kontroll
Kons. (%)	10 <sup>6</sup> /l	10 <sup>6</sup> /l	10 <sup>6</sup> /l	10 <sup>6</sup> /l		
10	5	23	153	621	1.59	104
10	5	28	152	656	1.60	105
10	5	31	158	575	1.56	102
18	5	31	144	537	1.54	101
18	5	32	139	507	1.52	100
18	5	29	130	536	1.54	101
56	5	35	78	288	1.33	87
56	5	28	70	249	1.28	84
56	5	21	78	264	1.30	86
100	5	16	66	213	1.23	81
100	5	17	71	212	1.23	81
100	5	16	69	203	1.22	80
Kontroll	5	17	111	494	1.51	99
	5	27	119	518	1.53	100
	5	28	143	525	1.53	100
	5	74*	130	537	1.54	101
	5	34	114	500	1.51	99
	5	26	119	516	1.52	100

## MIDDELVERDIER

		%				
10	Mv:	27	154	617	1.58	104
	St. d.	4.04	3.21	40.62	0.02	1.43
18	Mv.	31	138	527	1.53	100
	St. d.	1.53	7.09	17.04	0.01	0.70
56	Mv.	28	75	267	1.31	86
	St. d.	7.00	4.62	19.67	0.02	1.58
100	Mv.	16	69	209	1.23	81
	St. d.	0.58	2.52	5.51	0.01	0.57
Kontroll	Mv.	27	123	514	1.52	100
	St. d.	7.1	13	18	0.01	0.74
Variasjonskoeffisient i kontroller (%)					0.74	

\*Forkastet verdi

## pH-verdier

Konsentrasjon.	Start	73 timer
Kontroll	8.11	8.02
10 %	7.85	7.95
18 %	7.75	7.89
56 %	7.31	7.77
100 %	6.05	7.41

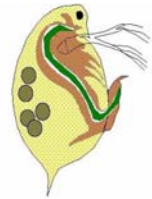
Vedlegg 2  
Toksisitetstester med *Daphnia magna*



Norsk institutt  
for vannforskning  
Gaustadallen 21  
0349 Oslo  
Tel: 22 18 51 00  
Fax: 22 18 52 00

# TESTRAPPORT

**Akutt toksisitet**  
*Daphnia magna*  
NIVA metode K9



**Teststoff:** Blekeri+TM 16.10.07  
**Kunde:** Borregaard

**Lab. kode:** B533-1  
**Prøve mottatt:** 01.11.07

**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 næringsssaltløsning. Alder ved teststart < 24 timer.

**Testperiode** 01.11 – 03.11.07

**Forbehandling av prøve** Tilsatt ISO 6341 løsninger. pH i testløsninger ble justert til 7.5-8

**Fortynningsmedium** ISO 6341

**Testkonsentrasjoner** 10, 18, 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** 19.9 – 20.3°C

**pH i kontroll** Start: 7.8 Slutt: 7.5

**pH i høyeste kons.** Start: 8.0 Slutt: 7.5

**Oksygenmetning, 48 t** Kontroll: 8.4 mg/l Høyeste konsentrasjon 100%: 8,5 mg/l

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

Referankestoff: Kaliumdikromat: 24t EC<sub>50</sub>= 1.22 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	-	57	60	-	36

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



Observerte immobiliserte *Daphnia magna* etter 24 og 48 timer i kontroller og ulike konsentrasjoner av blekeri+TM 16.10.07

Konsentrasjon	Antall dyr	Antall immobiliserte		pH		O <sub>2</sub>
		24 tim.	48 tim.	start	48 tim.	48 tim.
10 %	21	0	0	7.69	7.23	8.30
18 %	20	0	0	7.78	7.29	8.34
32 %	20	0	0	7.86	7.34	8.26
56 %	21	1	9	7.92	7.46	8.46
100 %	20	19	20	7.98	7.50	8.46
Kontroll	22	0	0	7.77	7.53	8.35

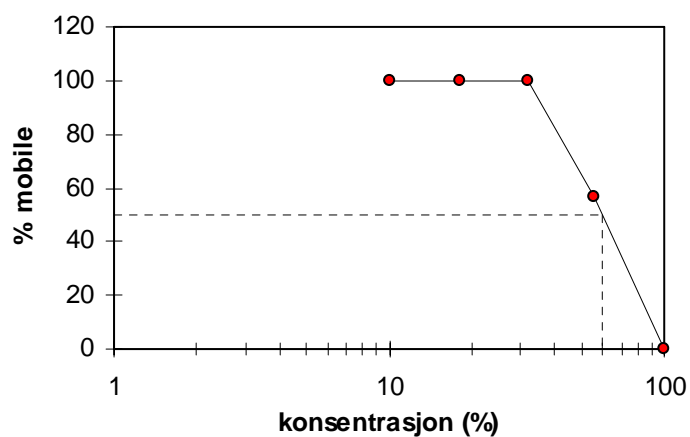


Fig. 1. Effekt av blekeri+TM 16.10.07 på overlevelse av *Daphnia magna* etter 48 timer.

Oslo, 05.11.07

Utført av: Randi Romstad

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.



Norsk institutt  
for vannforskning  
Gaustadallen 21  
0349 Oslo  
Tel: 22 18 51 00  
Fax: 22 18 52 00

# TESTRAPPORT

**Akutt toksisitet**  
*Daphnia magna*  
NIVA metode K9



**Teststoff:** Blekeri+TM 29.10.07  
**Kunde:** Borregaard

**Lab. kode:** B533-2  
**Prøve mottatt:** 01.11.07

**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** 02.11 – 04.11.07

**Forbehandling av prøve** Tilsatt ISO 6341 løsninger. pH i testløsninger ble justert til 7.5-8.

**Fortynningsmedium** ISO 6341

**Testkonsentrasjoner** 10, 18, 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** 19.9 – 20.3°C

**pH i kontroll** Start: 7.8 Slutt: 7,5

**pH i høyeste kons.** Start: 7,6 Slutt: 7,5

**Oksygenmetning, 48 t** Kontroll: 8.6 mg/l Høyeste konsentrasjon 100%: 8.3 mg/l

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

Referankestoff: Kaliumdikromat: 24t EC<sub>50</sub>= 1.22 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

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

Observerte immobiliserte *Daphnia magna* etter 24 og 48 timer i kontroller og ulike konsentrasjoner av blekeri+TM 29.10.07

Konsentrasjon	Antall dyr	Antall immobiliserte		pH		O <sub>2</sub>
		24 tim.	48 tim.	start	48 tim.	48 tim.
10 %	21	0	0	7.77	7.45	8.13
18 %	21	0	0	7.72	7.48	8.20
32 %	20	0	0	7.68	7.47	8.30
56 %	20	0	0	7.64	7.47	8.07
100 %	21	0	0	7.60	7.47	8.22
Kontroll	22	0	0	7.77	7.50	8.57

Oslo, 05.11.07

Utført av: Randi Romstad

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

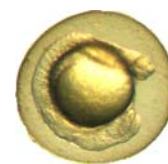
### Toksisitetstest med egg av Sebrafisk (*Danio rerio*)



Norsk institutt  
for vannforskning  
Gaustadallen 21  
0349 Oslo  
Tel: 22 18 51 00  
Fax: 22 18 52 00

# TESTRAPPORT

## Akutt toksisitet *Danio rerio* egg



**Teststoff:** Blekeri+TM 16.10.07  
**Kunde:** Borregaard

**Lab. kode:** B533-1  
**Prøve mottatt:** 01.11.07

Testmetode	ISO/DIS 15088: Water quality- determination of the acute toxicity of waste water to zebrafish egg ( <i>Danio rerio</i> ), ISO 2006.
Testorganisme	<i>Danio rerio</i> . Stamfisk holdt i akvarium ved NIVA i 4 måneder og fôret med kommersielt tørrfor (Tetramin, Hikari Micro wafers) og levende for ( <i>Daphnia magna</i> , <i>Artemia salina</i> ). Temperatur: 24 °C.
Gytingsbetingelser	Egglegging stimulert ved temperaturøkning til 26 °C.
Egg	Befruktede egg ble sortert ut ca.1 time etter egglegging.
Testperiode	10-12.03 2008
Fortynningsvann	50 % ISO 15088
Oppbevaring av vannprøve	Frosset ved -20 °C
Forbehandling av vannprøve	Tinet én time før teststart. Én porsjon pH-justert ved tilsetning av 1N HCl
Testkonsentrasjoner	10, 18, 32, 56 og 100 % uten pH-justering samt 100 % med pH-justering
Testbeholder	24-brønners mikrottestplate (Falcon) med 1 egg og 2 ml testvann i hver brønn
Inkuberingstid	48 timer
Inkubertingstemperatur	20 ±0.5 °C
Observasjoner	Etter 48 timer ble eggene inspisert. Levende embryoer ble påvist ved å konstatere hjerteslag. Avvikende utvikling av embryoer ble notert.
Beregning av LC50	LC50 ble beregnet ved grafisk interpolering av konsentrasjon/respons-kurven

### Resultat

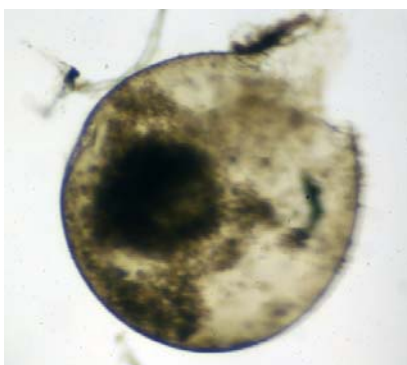
Antall overlevende egg etter 48 timers inkubering i ulike konsentrasjoner av avløpsvannet er vist i tabellen nedenfor. Det ble observert en økende dødelighet av egg med økende konsentrasjon av ikke pH-justert avløpsvann. I uforynnet avløpsvann (100 %) var alle egg døde og ingen utviklede embryoer ble observert. I avløpsvann som var justert til pH 7.2 ble det ikke observert døde egg og alle embryoer var normalt utviklet. Dette viser at avløpsvannets effekt på egg av sebrafisk primært skyldes den høye pH-verdien.

	pH	Antall egg	Levende etter 48 tim
Kontroll		10	10
10 %	9.17	10	9
18 %	9.54	10	9
32 %	9.91	10	7
56 %	10.34	10	7
100 %	10.64	10	0
100 % pH-justert	7.20	10	10

Bildene nedenfor viser egg fra kontrollen (fortynningsvann uten avløpsvann) og fra 100 % avløpsvann uten pH-justering og med pH-justering.



Kontroll



100 % avløpsvann



100 % pH-justert avløpsvann

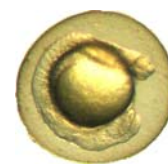
Basert på dødeligheten i avløpsvann uten pH-justering blir LC50 beregnet ved grafisk interpolering 66 %.



Norsk institutt  
for vannforskning  
Gaustadallen 21  
0349 Oslo  
Tel: 22 18 51 00  
Fax: 22 18 52 00

# TESTRAPPORT

## Akutt toksisitet *Danio rerio* egg



**Teststoff:** Blekeri+TM 29.10.07  
**Kunde:** Borregaard

**Lab. kode:** B533-2  
**Prøve mottatt:** 01.11.07

Testmetode	ISO/DIS 15088: Water quality- determination of the acute toxicity of waste water to zebrafish egg ( <i>Danio rerio</i> ), ISO 2006.
Testorganisme	<i>Danio rerio</i> . Stamfisk holdt i akvarium ved NIVA i 4 måneder og fôret med kommersielt tørrfor (Tetramin, Hikari Micro wafers) og levende for ( <i>Daphnia magna</i> , <i>Artemia salina</i> ). Temperatur: 24 °C.
Gytingsbetingelser	Egglegging stimulert ved temperaturøkning til 26 °C.
Egg	Befruktede egg ble sortert ut ca.1 time etter egglegging.
Testperiode	10-12.03 2008
Fortynningsvann	50 % ISO 15088
Oppbevaring av vannprøve	Frosset ved -20 °C
Forbehandling av vannprøve	Tinet én time før teststart. Én porsjon pH-justert ved tilsetning av 1N HCl
Testkonsentrasjoner	10, 18, 32, 56 og 100 % uten pH-justering samt 100 % med pH-justering
Testbeholder	24-brønners mikrottestplate (Falcon) med 1 egg og 2 ml testvann i hver brønn
Inkuberingstid	48 timer
Inkubertingstemperatur	20 ±0.5 °C
Observasjoner	Etter 48 timer ble eggene inspisert. Levende embryoer ble påvist ved å konstatere hjerteslag. Avvikende utvikling av embryoer ble notert.

### Resultat

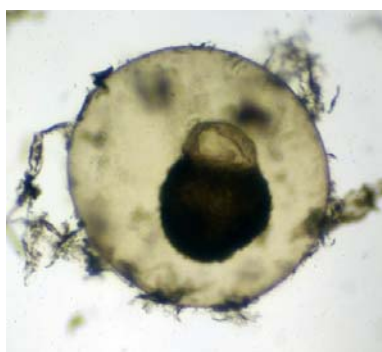
Antall overlevende egg etter 48 timers inkubering i ulike konsentrasjoner av avløpsvannet er vist i tabellen nedenfor. Ved hver av konsentrasjonene fra 18-56 % avløpsvann ble det observert ett dødt egg (10 %). Dette kan skyldes tilfeldig skadede egg. I ufortynnet avløpsvann (100 %) var alle egg døde og ingen utviklede embryoer ble observert. I avløpsvann som var justert til pH 7.0 ble det ikke observert døde egg. Dette viser at avløpsvannets effekt på egg av sebrafisk primært skyldes den høye pH-verdien. Det ble imidlertid registrert at de levende embryoene i det pH-justerte avløpsvannet var unormalt lite pigmentert i øye og hud.

	pH	Antall egg	Levende etter 48 tim
Kontroll		10	10
18 %	6.79	10	9
32 %	6.09	10	9
56 %	4.03	10	9
100 %	3.34	10	0
100 % pH-justert	7.08	10	10

Bildene nedenfor viser egg fra kontrollen (fortynningsvann uten avløpsvann) og fra 100 % avløpsvann uten pH-justering og med pH-justering.



Kontroll



100 % avløpsvann



100 % pH-justert avløpsvann

Basert på dødeligheten i avløpsvann uten pH-justering blir LC50 beregnet ved grafisk interpolering 72 %.



NIVA: Norges ledende kompetansesenter på vannmiljø

NIVA gir offentlig vannforvaltning, næringsliv og allmennheten grunnlag for god vannforvaltning gjennom oppdragsbasert forsknings-, utrednings- og utviklingsarbeid. NIVA kjennetegnes ved stor faglig bredde og godt kontaktnett til fagmiljøer i inn- og utland. Faglig tyngde, tverrfaglig arbeidsform og en helhetlig tilnæringsmåte er vårt grunnlag for å være en god rådgiver for forvaltning og samfunnsniv.



Norsk institutt for vannforskning

Gaustadalléen 21 • 0349 Oslo  
Telefon: 02348 • Faks: 22 18 52 00  
[www.niva.no](http://www.niva.no) • [post@niva.no](mailto:post@niva.no)