

O-90114

KARAKTERISERING AV AVLOPPSVATTEN FRÅN

# Berol Nobel

Stenungsund



# NIVA – RAPPORT

Norsk institutt for vannforskning  NIVA

<b>Hovedkontor</b> Postboks 69, Korsvoll 0808 Oslo 8 Telefon (02) 23 52 80 Telefax (02) 39 41 89	<b>Sørlandsavdelingen</b> Televeien 1 4890 Grimstad Telefon (041) 43 033 Telefax (041) 43 033	<b>Østlandsavdelingen</b> Rute 866 2312 Ottestad Telefon (065) 76 752 Telefax (065) 78 402	<b>Vestlandsavdelingen</b> Breiviken 5 5035 Bergen-Sandviken Telefon (05) 95 17 00 Telefax (05) 25 78 90
--	---	--	--

Prosjektnr.: <b>0-90114</b>
Undernummer:
Løpenummer: <b>2514</b>
Begrenset distribusjon:

Rapportens tittel: <b>Karakterisering av avløpsvatten från Berol Nobel, Stenungsund</b>	Dato: <b>11.12.90</b>
	Prosjektnummer: <b>0-90114</b>
Forfatter (e): <b>Torsten Källqvist</b>	Faggruppe: <b>Analyse</b>
	Geografisk område: <b>Sverige</b>
	Antall sider (inkl. bilag): <b>92</b>

Oppdragsgiver: <b>Berol Nobel</b>	Oppdragsg. ref. (evt. NTNf-nr.): <b>K. Andrén</b>
--------------------------------------	--

Ekstrakt: En karakterisering av utgående avløpsvann fra Berol Nobel i Stenungsund, Sverige er utført etter direktiver fra Statens Naturvårdsverk. Programmet omfattet kjemisk og biologisk karakterisering (toksisitet og nedbrytbarhet) av prøver tatt over en 10 ukers periode i april- juni 1990. Resultatene viste toksiske effekter på akvatiske organismer ned til ca. 0.3 % konsentrasjon. Toxiciteten var tildels persistent. Kjemisk karakterisering viste innhold av bl. a. p-nonylfenol (1570 µg/l), dioxan (500 µg/l) og fenol (200 µg/l).
---

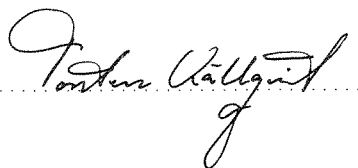
4 emneord, norske:

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

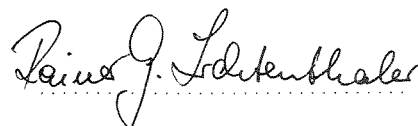
4 emneord, engelske:

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

Prosjektleder:



For administrasjonen:



ISBN 82-577-1824-6

Norsk Institutt for Vannforskning

O-90114

**KARAKTERISERING AV AVLOPPSVATTEN**

**FRÅN**

**BEROL NOBEL**

**STENUNGSUND**

Prosjektledare: **Torsten Källqvist, NIVA**

Medarbeidere:

**NIVA**  
Harry Efraimsen  
Randi Romstad  
Åse Bakketun

**SI**  
Berit Holestøl  
  
**Kristinebergs Marinbiologiska  
Station**  
Åke Granmo  
Esbjörn Telemo

**Göteborgs Universitet**  
Sten Åke Wängberg  
Sverker Molander

## FÖRORD

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

*Utöver de nämnda institutionerna har VBB konsult AB varit ansvarig för provtagning och leverans av prover till Oslo. Tester med marina alger har utförts vid Botaniska Institutionen, Göteborgs Universitet och toxicitetstester med storspigg vid Kristinebergs Marinbiologiska Station, Fiskebäckskil. Analyser av dygnsprover utfördes lokalt vid Berol Nobel (Microtox) och Neste Oxo (DOC). Övriga tester och analyser har utförts vid NIVA och SI.*

*Oslo december 1990*

*Torsten Källqvist*

# INNEHÅLLSFÖRTECKNING

	Sida
<b>1. Material och metoder</b>	4
1.1. Beskrivning av anläggning	4
1.2. Provtagning	5
1.3. Provbehandling	5
1.4. Test-och analysprogram	6
<b>2. Resultat</b>	9
2.1. Variationsstudie	9
2.2. Blandprov	9
2.2.1. Kemisk karakterisering	9
2.2.2. Bioackumuleringspotential	11
2.2.3. Toxicitet	11
2.2.4. Mutagenitet	12
2.2.5. Nedbrytbarhet	14
2.2.6. Kemisk karakterisering efter nedbrytning	14
2.2.7. Toxicitet efter nedbrytning	15
<b>3. Kommentarer</b>	16
<b>4. Referanser</b>	18
APPENDIX 1. Analyser av mineralolja	19
APPENDIX 2. Priority pollutants	25
APPENDIX 3. Bioackumuleringspotential	35
APPENDIX 4. Toxicitetstest med aktivt slam	46
APPENDIX 5. Toxicitetstester med Microtox	48
APPENDIX 6. Toxicitetstester med <i>Selenastrum</i>	55
APPENDIX 7. Toxicitetstester med marina alger	62
APPENDIX 8. Akut toxicitet, <i>Nitocra spinipes</i>	68
APPENDIX 9. Reproduktionstest med <i>Nitocra spinipes</i>	71
APPENDIX 10. Akut toxicitet, Storspigg	73
APPENDIX 11. Ames test	81
APPENDIX 12. Nedbrytbarhetstester	89
APPENDIX 13. Metoder	94

# 1. MATERIAL OCH METODER

## 1.1. Beskrivning av anläggning

Berol Nobel utvecklar, tillverkar och säljer ytkemiska produkter. Produktionsverksamheten i Stenungsund drivs inom tre divisioner; etylenoxid (EO), amin och ytkemi (EMU+SFT). EO divisionen driver dessutom en etenterminal, samt hjälpanläggningar.

Inom industriområdet finns fyra tillverkningsenheter; etylenoxid - glykolfabriken, emulgolfabriken, specialtensidfabriken och aminfabriken.

Tillverkningen av etylenoxid sker från eten och syrgas. Etylenoxiden är råvara vid produktionen av monoetylenglykol och dietylenglykol i glykolanläggningen och till amin och ytkemis produkter. Produktionen är kontinuerlig.

Aminfabriken består av två produktionsprocesser för produktion av etanolamin och etylenamin med ammoniak och etylenoxid som råvaror. Produktionen är kontinuerlig.

Ytkemis fabriker består av emulgolfabriken och specialtensidfabriken. Vid emulgolfabriken tillverkas nonjonaktiva tensider, s.k. emulgoler och en liten del polyoler. Produktionen sker satsvis.

Vid specialtensidfabriken tillverkas anjonaktiva och katjonaktiva tensider. Även blandningar av nonjontensider med anjon eller katjontensider sker här. Tillverkningen är uppdelad i tre olika reaktorsystem och sker satsvis.

Avloppen inom anläggningarna är ordnade med separata ledningar för ytvatten, industriavloppsvatten, processvatten, X-avlopp och sanitärt avlopp. Saltvatten för kylning avleds dels till ytvattensystemet, dels genom systemet för industriavlopp som spädvatten efter reningsanläggningen. Processavloppsvatten samlas till förbränning.

Ytvattenavloppet utgörs av uppsamlat regnvatten, delström av kylvatten, kondensat som inte återanvänds mm. Det går via en uppsamlingsbassäng direkt ut i havet.

Industriavloppet utgörs av ett något mer förorenat vatten. Lätt förorenat vatten från Ytkemi, Oxidfabriksplattorna och samtliga invallningar leds till industriavloppet. EO-

fabrikens avlopp från reaktorplatta är invallat och släpps till avlopp efter okulärbesiktning.

X-avlopp utgör den avloppsdel som leder utgående saltvatten från etylenoxidlagret och glykolfabriken till tunneln. I detta avlopp avleds saltvatten som använts vid kylning. Detta vatten utnyttjas till spädning av industriavloppet i tunneln.

Ytvattnet med kylvatten avleds via utjämningsbassäng till de inre delarna av Askeröfjorden - Jordhammarsviken via öppen kanal. Industriavloppet avleds via oljeavskiljare och utjämningsbassäng, med ca. 5 dygns uppehållstid. Efter spädning med vatten från X-avlopp leds industriavloppet till Askeröfjorden via tunnel och avloppstub som mynnar på ca. 9 m djup.

## **1.2. Provtagning**

10 dygnsprov togs ut under ett dygn/vecka i 10 veckor från 9.4 - 12.6 1990. Proverna togs med en automatisk, flödesproportionell provtagare från utloppet av utjämningsbassängen för industriavlopp.

## **1.3. Provbehandling**

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

Av dygnsproverna filtrerades ca. 1 l genom membranfilter med porositeten 0.47 µm för analys av löst organisk kol (DOC) vid Neste Oxo's laboratorium. Microtox-test utfördes vid Berols laboratorium.

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

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

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

Datum:	9/4	17/4	23/4	2/5	8/5	17/5	22/5	28/5	6/6	12/6
Flöde m <sup>3</sup> /d	276	304	252	260	332	322	302	243	352	311
Blandningsförhållande %	9.3	10.3	8.5	8.8	11.2	10.9	10.2	8.2	11.9	10.5

#### 1.4. Test-och analysprogram

Programmet för karakteriseringen är upplagt efter Statens Naturvårdsverks "STORK-projekt" (Bengtsson och medarb. 1990). I korthet går undersökningen ut på att avloppsvattnet karakteriseras med hjälp av kemiska analyser och biologiska tester. Vid de biologiska testerna undersöks avloppsvattnets giftverkan på olika vattenlevande organismer (toxicitetstester), och den mikrobiella nedbrytbarheten av organiska ämnen i avloppsvattnet. Programmets uppläggning framgår av figur 1.

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

Den kemiska karakteriseringen av veckoblandprovet omfattade följande parametrar:

Parameter		Metod
Kemiskt syreförbruk	COD	NS 4748
Biokemiskt syreförbruk	BOD <sub>7</sub>	NS 4749
Totalt organiskt kol	TOC	Standard methods 505 (Se app. 13.)
Löst organiskt kol	DOC	Standard methods 505 (Se app. 13).
Mineralolja		Se appendix 1
Nonylfenoletoxylat		Berol
Priority pollutants		SI, (Se appendix 2)
Organiskt kväve	N	NS 4743, 4744, 4745
Organiskt fosfor	P	NS 4724, 4725
pH		NS 4720
Konduktivitet		NS4721
Suspenderat material		NS 4733



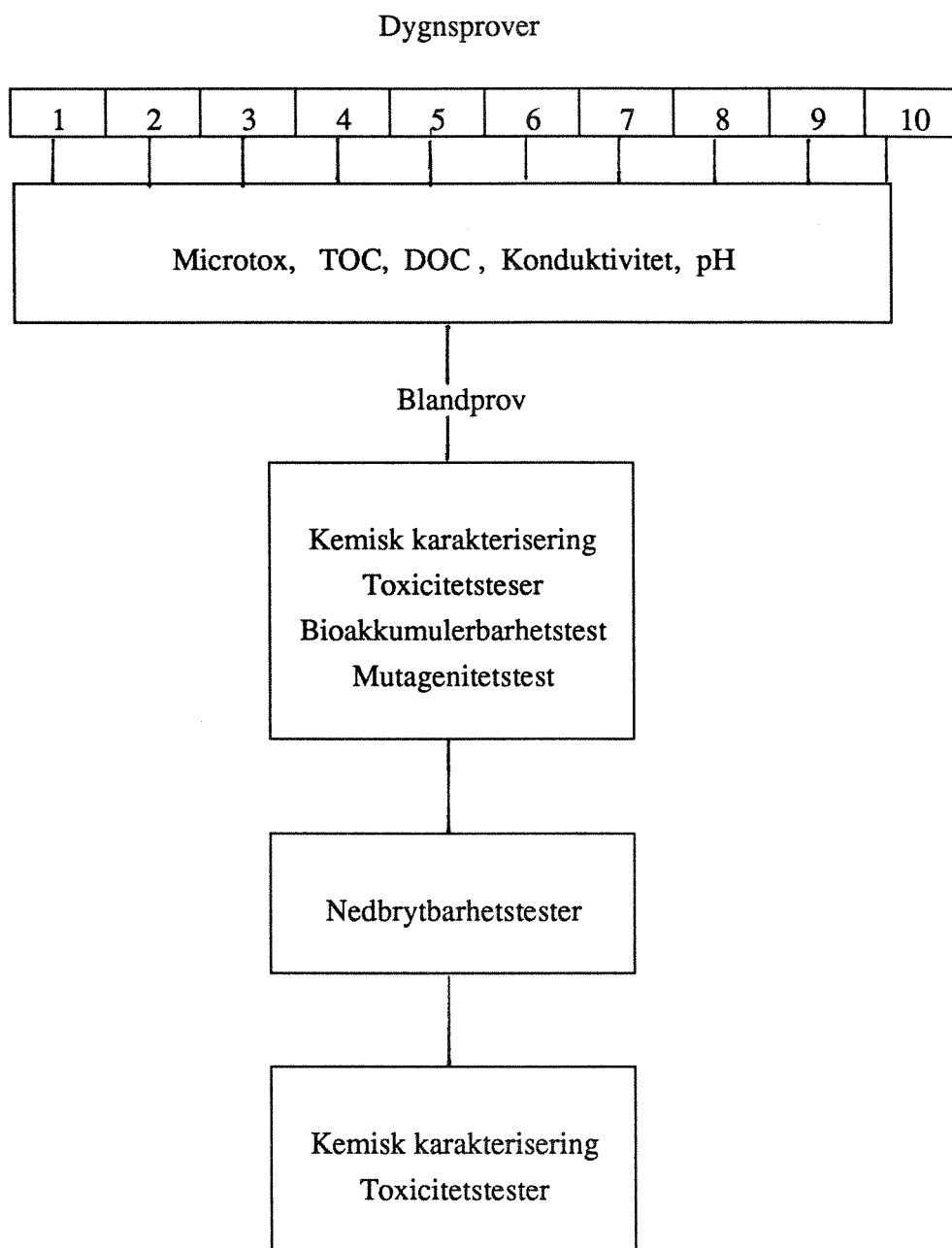


Fig. 1. Skiss av program för karakteriseringen.

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

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

Avloppsvattnets giftverkan undersöktes med 7 toxicitetstester:

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

Bionedbrytning av organiska ämnen i avloppsvattnet undersöktes enligt ISO 7827 "Water quality - Evaluation in an aqueous medium of the ultimate aerobic biodegradability of organic compounds - method by analysis of dissolved organic carbon (DOC)". Testen utfördes efter spädning av avloppsvatten till 30% koncentration i en 100 l polyeten-behållare. Testtemperaturen var 20 °C

Parallellt med denna nedbrytbarhetstest gjordes en test efter spädning av avloppsvattnet 1:4 i respirometer (ISO 9408 "Evaluation in an aqueous medium of the ultimate aerobic biodegradability of organic compounds"), med daglig registrering av syreförbrukningen. Denna test utfördes för att följa utvecklingen av BOD över tid. Testen gjordes vid 20 °C

En tredje nedbrytbarhetstest utfördes efter spädning i saltvatten (30% konc.) efter en modifierad version av ISO 7827. Saltvattentesten gjordes vid temperaturen 4-5 °C.

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

## 2. RESULTAT

### 2.1. Variationsstudie

Resultaten av analyserna av dygnsproverna redovisas i tabell 2. Analyserna visar ganska stor variation i avloppsvattnets sammansättning och giftighet. pH värdet var lägst under de första veckorna, högt (9.8-11.8) från 17.4 - 28.5 och lägre igen den sista veckan. Totalt organiskt kol (TOC) visar ingen samvariation med pH-värdet, men också här är variationerna stora, från 100 mg/l 22.5 till 222 mg/l 23.4. Medelvärdet är 160 mg/l. Ledningsförmågan var mellan 115 och 370 mS/m.

Toxiciteten mätt med Microtox visar en viss samvariation med TOC, men avvikelser förekommer. EC<sub>50</sub>-värdena varierar mellan 0.9 % och 51.5% avloppsvatten. Medelvärdet är 10.5%.

Tabell 2. Ledningsförmåga, löst organiskt kol (DOC) och EC<sub>50</sub> (15 min.) för Microtox i dygnsprover.

Datum:		9/4	17/4	23/4	2/5	8/5	17/5	22/5	28/5	6/6	12/6
pH		6.9	6.5	9.8	10.0	11.8	9.9	-	11.5		7.7
Ledningsförmåga	mS/m	1460	1310	1560	1150	1200	1125	2400	3700	1300	1650
DOC	mg/l	200	125	222	172	172	173	100	118	161	161
Microtox	EC <sub>50</sub> (%)	1.28	21.3	4.1	9.52	0.9	4.23	51.5	4.05	5.11	3.72

### 2.2. Blandprov

#### 2.2.1. Kemisk karakterisering

Resultat av de kemiska analyserna av veckoblandprovet redovisas i tabell 3. Avloppsvattnet är basiskt, med pH-värdet 10.2. Ledningsförmågan, 219 mS/m motsvarar ett salinnehåll på ca. 1.4 g/l. Innehållet av suspenderat material är lågt.

Parametrarna COD, BOD, TOC och DOC visar att avloppsvattnet har ett reellt högt innehåll av organiskt material, huvudsakligen i löst form. Nivåerna motsvarar ungefär vad man finner i kommunalt avloppsvatten. DOC-innehållet överensstämmer med vad

analyserna av delproverna visade. TOC-analysen gav lägre värde än DOC vilket är orimligt, men som antagligen beror på att det partikulära materialet inte oxideras vid uppslutningen men i stället minskar oxidationen av det lösta organiska materialet. Det är tidigare visat at våtoxideration med peroxidsulfat som används vid denna analys inte förmår oxidera partikulärt organiskt material i avloppsvatten fullständigt (Hovind 1990).

Endast en mycket liten del av det organiska materialet har identifierats med de specifika analyserna (mineralolja och "priority pollutants"). Den största komponenten av de identifierade ämnena är p-nonylfenol (1.5 mg/l), dioxan (0.5 mg/l) och fenol (0.2 mg/l). Mineralolja kunde också påvisas (0.1 mg kolväten/l).

Tabell 3. Resultat av kemisk karakterisering av avloppsvatten före och efter 28 dygns nedbrytbarhetstest. Analysresultaten efter nedbrytning har korrigerats för utspädning med havsvatten genom multiplikation med spädningsfaktorn (3.3x).

Parameter	enhet	före ned- brytn	efter ned- brytn.	Appendix
pH		10.2	-	
Ledningsförmåga	mS/m	219	-	
Suspenderat material	mg/l	23	-	
COD	mg O/l	550	250	
BOD	mg O/l	225	17	
TOC	mg/l	160	47	
DOC	mg/l	170	57	
Mineralolja	mg/l	0.1	<0.17	App. 1
Nonylfenoletoxylat	µg/l	8.1	<1	
p-Nonylfenol	µg/l	1570	-	App. 2
Fenol	µg /l	200	-	App. 2
Di-(2 etylhexyl)ftalat	µg /l	49	-	App. 2
Dioxan	µg/l	500	-	App. 2
Tot. N	mg /l	11.7	-	
NO <sub>3</sub>	mg N/l	0.095	-	
NH <sub>4</sub>	mg N/l	3.65	-	
Tot. P	mg/l	0.5	-	
PO <sub>4</sub>	mg P/l	0.2	-	

### 2.2.2. Bioackumulerbarhetspotential

Bioackumuleringspotentialen blev undersökt i ett surt och ett basiskt extrakt av avloppsvattnet. Innehållet av kromatograferbara ämnen i de två extrakten före och efter fraktionering med tunnskikt-kromatografi visas i tabell 4. Som potentiellt bioackumulerbara räknas ämnen med fördelningskoefficient oktanol/vatten ( $P_{ow}$ )  $>10^3$ . Testen visade inget innehåll av potentiellt bioackumulerbara ämnen.

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

Extrakt	Före extraktion	Fraktion II log $P_{ow} >10^5$	Fraktion III log $P_{ow} 10^3$ - $10^5$
Surt	7.7	i.p.	i.p.
Basiskt	0.7	i.p.	i.p.

### 2.2.3. Toxicitet

Resultaten av toxicitetstesterna har sammanfattats i tabell 5. Med undantag för testen med aktivt slam, visade samtliga tester gifteffekter ned till ca. 1% koncentration eller lägre. Hämmning av algernas växt var den mest känsliga responsen av de som undersöktes. Växthastigheten hos grönalgen *Selenastrum capricornutum* hämmades med 10% vid koncentrationen 0.3 % ( $EC_{10}$ ).  $EC_{50}$  (50% växthämning) var vid 1.4%. (Se fig. 2.). Det lägsta  $EC_0$ -värdet (0% effekt) för tre av de testade marina algerna var 0.62 %.

Microtox-testen visade något mindre känslighet än de flesta algerna.  $EC_{50}$ -värdet vid 15 min. exponering var 2.52%, vilket är betydligt lägre än medelvärdet för de olika delprovernas  $EC_{50}$ -värden (10%).

Hos kräftdjuret *Nitocra spinipes* observerades dödlighet vid koncentrationer över 1 %.  $LC_{50}$ -värdet var 3.2 %. (Se figur 3.) . Nedsatt reproduktion påvisades vid 1% och högre koncentrationer. Vid koncentrationen 1.8% var reproduktionen reducerad med 80% i förhållande till kontrollen.  $EC_{50}$ -värdet estimerades till 1%

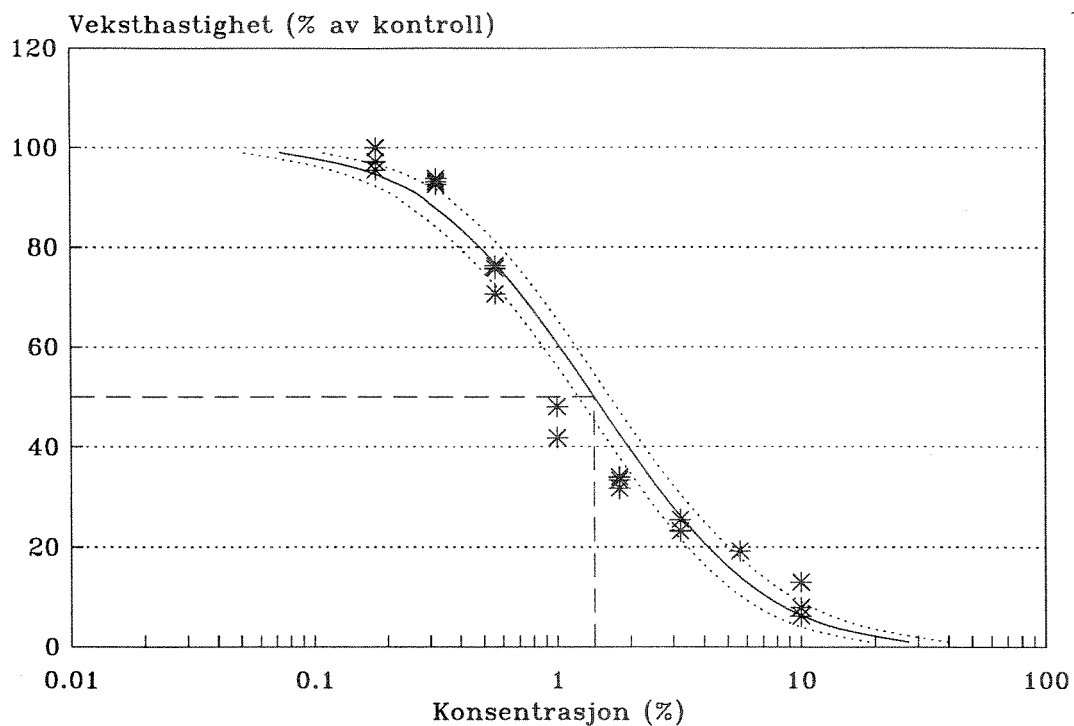
Testen med storspigg visade 100% dödlighet vid 10% koncentration efter 2 dygns exponering och LC<sub>50</sub>-värdet (2 dygn) var 3 %. Förutom dödlighet observerades även subletala (icke dödliga) effekter som beteendeförändringar, och här observerades ned-satt aktivitet för 50% av djuren (EC<sub>50</sub>-värde) vid 2% inblandning.

#### 2.2.4. Mutagenitet

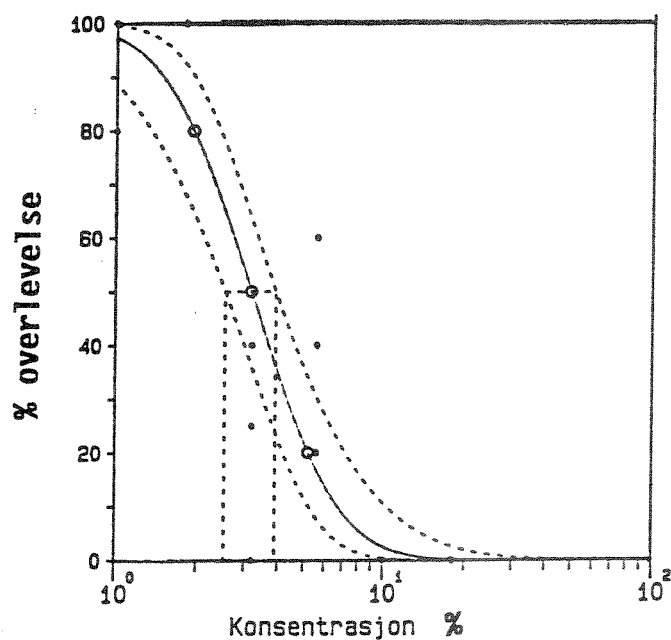
Ames test utförd på avloppsvattnet visade inga mutagena effekter vid dosering av upp till 100 µl extrakt. Försök med högre doser visade toxiska effekter på bakterierna.

Tabell 5. Toxicitet i avloppsvatten före och efter nedbrytbarhetstest. (EC- och LC-värden angivet som % avloppsvatten). EC- och LC<sub>50</sub> värden efter nedbrytning har korrigerats för den utspädning som gjordes vid nedbrytningstesten.

Test	respons	före nedbr.	efter nedbr.	Appendix
Aktiv slam	EC <sub>50</sub> , syrekonsumtion	>100%	-	App. 4
Microtox	EC <sub>50</sub> , ljusproduktion 15 min.	2.52	3.5	App. 5
Selenastrum	EC <sub>50</sub> , växthastighet	1.4	14	App.6
Selenastrum	EC <sub>50</sub> , areal under växtkurva	0.46	7.5	App. 6
Marina alger	EC <sub>0</sub> , växt (medelvärde, 5 d.)	1.85	2.22	App. 7
Marina alger	EC <sub>0</sub> ,växt (lägsta värde 5, d.)	0.62	0.75	App. 7
Marina alger	EC <sub>100</sub> , växt (medelvärde 5 d.)	36	17.7	App. 7
Marina alger	EC <sub>100</sub> ,växt (lägsta värde 5 d.)	10	12	App. 7
Nitocra spinipes	LC <sub>50</sub> (4 d.)	3.2	>30	App. 8
Nitocra spinipes	EC <sub>50</sub> , reproduktion	1	>17	App. 9
Storspigg	LC <sub>50</sub> (2 d.)	3	-	App. 10



Figur 2. Effekt av avloppsvattnet på væksthastigheten hos *Selenastrum capricornutum*. 100% væksthastighet=væksthastighet i kontrollkulturer. Prickede linjer=95% konfidensintervall for responskurvan (Probit-analyse). Strekkad linje anger 50% respons ( $EC_{50}$ )



Figur 3. Effekt av avloppsvattnet på overlevnad hos *Nitocra spinipes*. Strekkede linjer anger 95% konfidensintervall rundt responskurvan som beråknats genom probit-analyse.

### 2.2.5. Nedbrytbarhet

Huvudtesten för nedbrytbarhet gjordes efter spädning av avloppsvattnet till koncentrationen 30% för att erhålla en DOC-koncentration som var innanför rekommendationerna i metoden. DOC-koncentrationen avtog genom hela testen, men långsammare mot slutet, och när testen avbröts efter 35 dygn, var DOC-reduktionen 60%. (Se fig. 4). Det var detta vatten som gick till karakterisering efter nedbrytning.

Parallellt med huvudtesten gjordes en test i respirometer med avloppsvatten utspätt till koncentrationen 25%. Testen visar syreförbrukningen över 28 dygn (Se figur 5.). Syreförbrukningskurvan visar att 85% av syreförbrukningen skedde under de första 8 dygnen. BOD<sub>28</sub> omräknat till koncentrerat avloppsvatten var 330 mg/l. Också i respiromertesten analyserades DOC-koncentrationen vid start och slut. Resultaten visade en något högre nedbrytningsgrad (74%) än i huvudtesten.

Nedbrytbarhetstesten i saltvatten utfördes med koncentrationen 30% avloppsvatten, vid temperaturen 4-5 °C, och pågick i 35 dygn. Också i denna testen var omsättningen snabbast under den första veckan. (Se figur 6.). DOC-värdena stagnerade därefter och visade t.o.m. en ökning mot slutet. Variationerna i DOC under den senare delen av testen får anses ligga inom felmarginalerna som är större vid analyser i saltvatten än i sötvatten. Total DOC-reduktion var 40-50%, d.v.s lägre än vid de övriga testerna. Den lägre nedbrytningsgraden kan bero på saltvattensmediet eller den lägre temperaturen.

### 2.2.6. Kemisk karakterisering efter nedbrytning

Resultaten av de kemiska analyserna som utfördes på avloppsvattnet efter nedbrytning redovisas i tabell 3. Värdena har korrigerats för utspädningen vid nedbrytbarhetstesten för att kunna jämföras med analyserna före nedbrytning.

Den kemiska syreförbrukningen (COD) var efter nedbrytningen något mindre än hälften av värdet innan nedbrytningen. Reduktionen var alltså mindre än för DOC. Det kan tyda på att oorganiska föreningar bidrar till COD.

Koncentrationen av mineralolja var i det analyserade provet mindre än detektionsgränsen (0.05 mg/l), vilket betyder att det p.g.a. utspädningen inte kan avgöras om koncentrationen har minskat vid nedbrytningen.



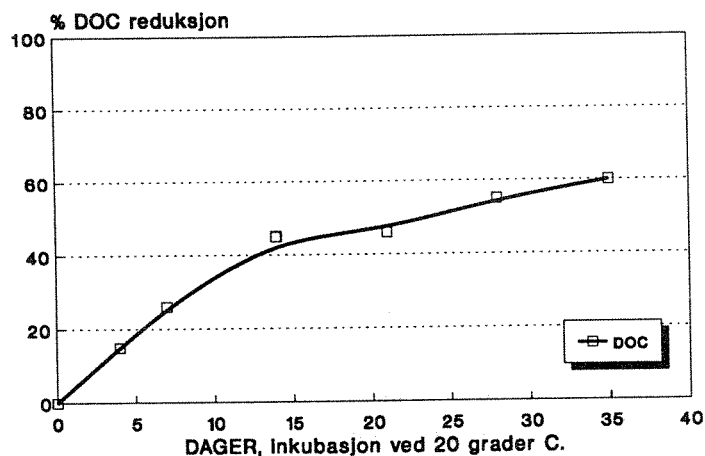


Fig. 4. Koncentrationer av DOC mätt vid nedbrytbarhetstest vid 20 °C.

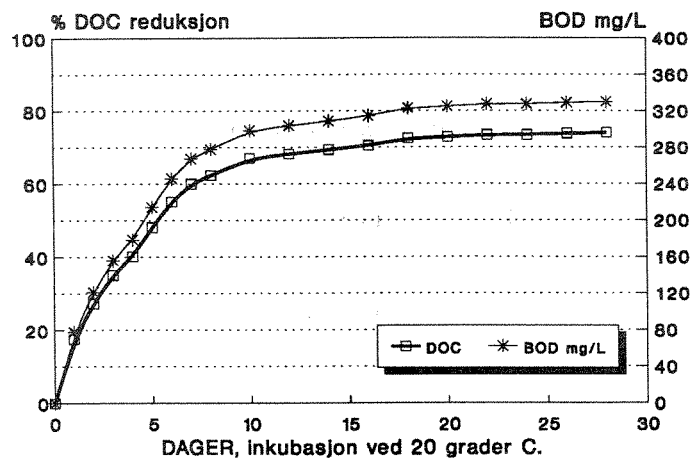


Fig. 5. Syreförbrukning vid nedbrytningstest vid 20°C. Den undre kurvan indikerar DOC-förlopp på basis av syreförbrukning

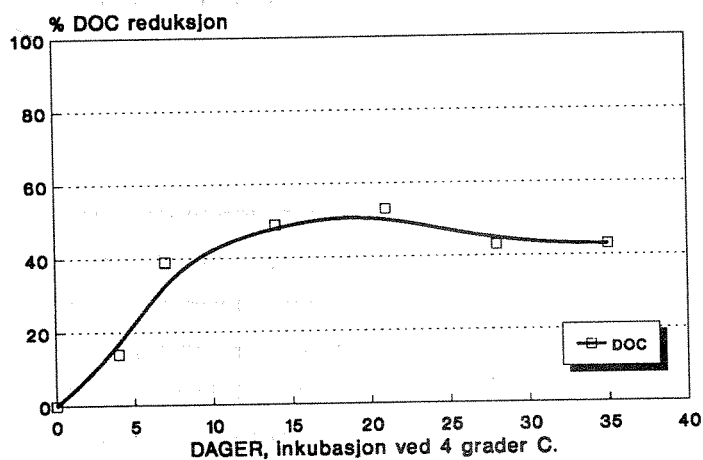


Fig. 6. Reduktion av DOC mätt vid nedbrytbarhetstest i saltvatten ved temperaturen 4-5°C.

### 2.2.7. Toxicitet efter nedbrytning

Nedbrytningen medförde en viss reduktion av toxiciteten på alla testade organismer. Resultaten redovisas i tabell 5.  $EC_{50}$ -värdet för *Microtox* ökade från 2.5 till 3.5%.  $EC_{50}$ -värdet för *Selenastrum* ökade med en faktor 10 och för de marina algerna ökade  $EC_{0}$ -värdena ca. 4 ggr. Hämmningen av alger vid de högsta testade koncentrationerna

kan emellertid delvis bero på den höga koncentrationen av fosfor i vattnet efter nedbrytbarhetstesten (fosfatbuffer används för att kontrollera pH-värdet vid nedbrytning). En toxicitetstest i nedbrytbarhetstestmedium (utan avloppsvatten) visade att växten av *Selenastrum* hämmades vid höga koncentrationer. Detta medför att giftverkan på alger efter nedbrytning är osäker. Vid låga koncentrationer av det nedbrutna avloppsvattnet observerades en stimulering av algväxten, som också kan bero på de salter som tillsatts vid nedbrytbarhetstesten.

För *Nitocra* noterades ingen ökad dödlighet i det utspädda (30%) avloppsvattnet efter nedbrytningen och  $LC_{50}$ -värdet kunde därför inte bestämmas. Testen med storspigg efter nedbrytning misslyckades p.g.a. för hög dödlighet i kontrollen och något  $LC_{50}$ -värde kan därför inte heller här anges.

Reproduktionen av *Nitocra* efter nedbrytning reducerades något vid den högsta testade koncentrationen, som motsvarar 16.8 % avloppsvatten.  $EC_{50}$ -värde kan inte bestämmas.

### 3. KOMMENTARER

Utgående avloppsvatten från Berol Nobel, Stenungsund innehåller organiska föreningar i koncentrationer som är ca. 4-5 ggr. högre än i kemiskt renat kommunalt avloppsvatten. Av detta är ca. hälften förhållandevis lätt nedbrytbart. Resterande fraktion brytes ned långsamt eller ofullständigt. I förhållande till den tidigare "MUST"-utredningen (Granmo 1986), var nedbrytbarheten betydligt högre vid 4 °C, medan den vid 20 °C var på samma nivå som en test utförd vid 15 °C visade 1983.

Endast en liten fraktion av det organiska materialet är identifierat vid de analyser som har utförts. Av kategorien "priority pollutants" blev det funnet p-nonylfenol (1570 µg/l), fenol (200 µg/l), di-(2etylhexyl)ftalat (49 µg/l) och dioxan (500 µg/l). Samtliga dessa föreningar identifierades också vid en analys som företogs 1983 (Granmo 1986), men då i koncentrationer som var från 6-55 ggr. högre än vid denna undersökning. (Se tabell 6.)

Toxiska effekter på alger har registrerats ned till ca. 0.3% , medan akuta effekter i form av 50% dödlighet på kräftdjuret *Nitocra spinipes* och på storspigg uppstod vid ca. 3% koncentration. Dessa resultat tyder på att toxiciteten inte minskat mycket för storspigg och marina alger sedan MUST-utredningen genomfördes 1983. *Nitocra-*

testen visade emellertid 5-10 gånger lägre gifteffekt nu än vid MUST-utredningen. (Se tabell 6.)

Avloppsvattnets toxicitet reducerades klart vid 4 veckors biologisk nedbrytning, men flera av testerna visar att de giftiga komponenterna till en del är persistenta.

Variationsstudien visade att avloppsvattnets sammansättning, och i synnerhet dess toxicitet är varierande. Resultaten tyder på att toxiska komponenter härstammar från icke-kontinuerliga processer vid anläggningen.

Det blev inte funnet genotoxiska eller potentiellt bioackumulerbara ämnen i avloppsvattnet. Vid undersökningen 1983 konstaterades däremot viss genotoxicitet.

Undersökningen visar att de åtgärder som har vidtagits för att reducera utsläppen till vatten sedan 1983, bl. a. förbränning av processvatten, har medfört vissa förbättringar, som något högre biologisk nedbrytbarhet, väsentlig reduktion av flera "priority pollutants" och genotoxicitet. Avloppsvattnets toxiska effekter på vattenlevande organismer tycks däremot inte ha minskat i motsvarande grad. Den toxiska effekten kan inte förklaras av de föreningar som har identifierats vid den kemiska karakteriseringen.

Tabell 6. Innehåll av några organiska komponenter och resultat av toxicitetstester vid denna undersökning och vid MUST-utredningen 1983. (Granmo 1984, 1986).

Parameter		1983 (MUST)	1990
Fenol	µg/l	11000	200
P-nonylfenol	µg/l	12022	1570
Di-n-butylftalat	µg/l	46	i.p.
Butysbensylftalat	µg/l	32	i.p.
Di-(2-etylhexyl)ftalat	µg/l	855	49
Dioxan	µg/l	3000	500
Nitocra LC <sub>50</sub> 96 tim.	%	0.32-0.62	3.2
Storspigg LC <sub>50</sub> 48 tim.	%	2	3
Marina alger, EC <sub>0</sub> (medelvärde)	%	1.28	1.85
Marina alger, EC <sub>0</sub> (lägsta värde)	%	0.3	0.62

#### 4. REFERANSER

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

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

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

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

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

## APPENDIX 1

### Analyser av mineralolja

## Mineralolje

### Analysemetode

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

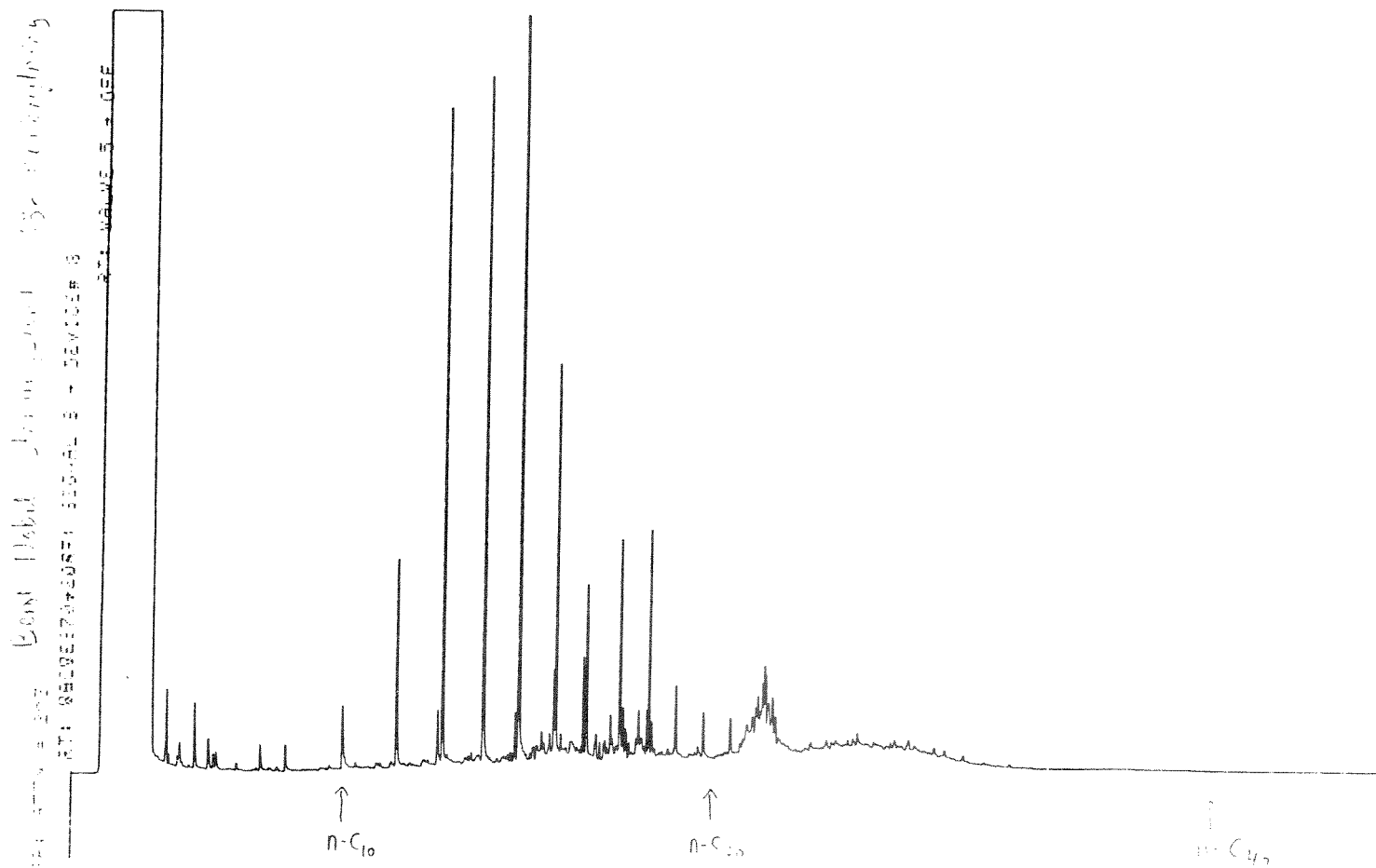
Prøvene ble ekstrahert med diklormetan. Prøveekstraktene ble rensert på en silica kolonne (Bond elut) for å fjerne polare forbindelser, før de ble analysert med gasskromatografi (GC). Denne teknikken gir opplysning om fordeling av ulike komponenter i prøven som funksjon av kokepunkt. Dette vil gi opplysning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

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

### Resultat

Avløpsvannprøven fra Berol Nobel, Stenungsund før nedbrytning inneholdt 0.1 mg hydrokarboner/l. I prøven etter nedbrytning (fortynnet 1:3.33) kunne mineralolje ikke påvises. Påvisningsgrensen for denne analysen er satt til 0.05 mg/l.

Kromatogrammene for prøvene før og etter nedbrytning er vedlagt.



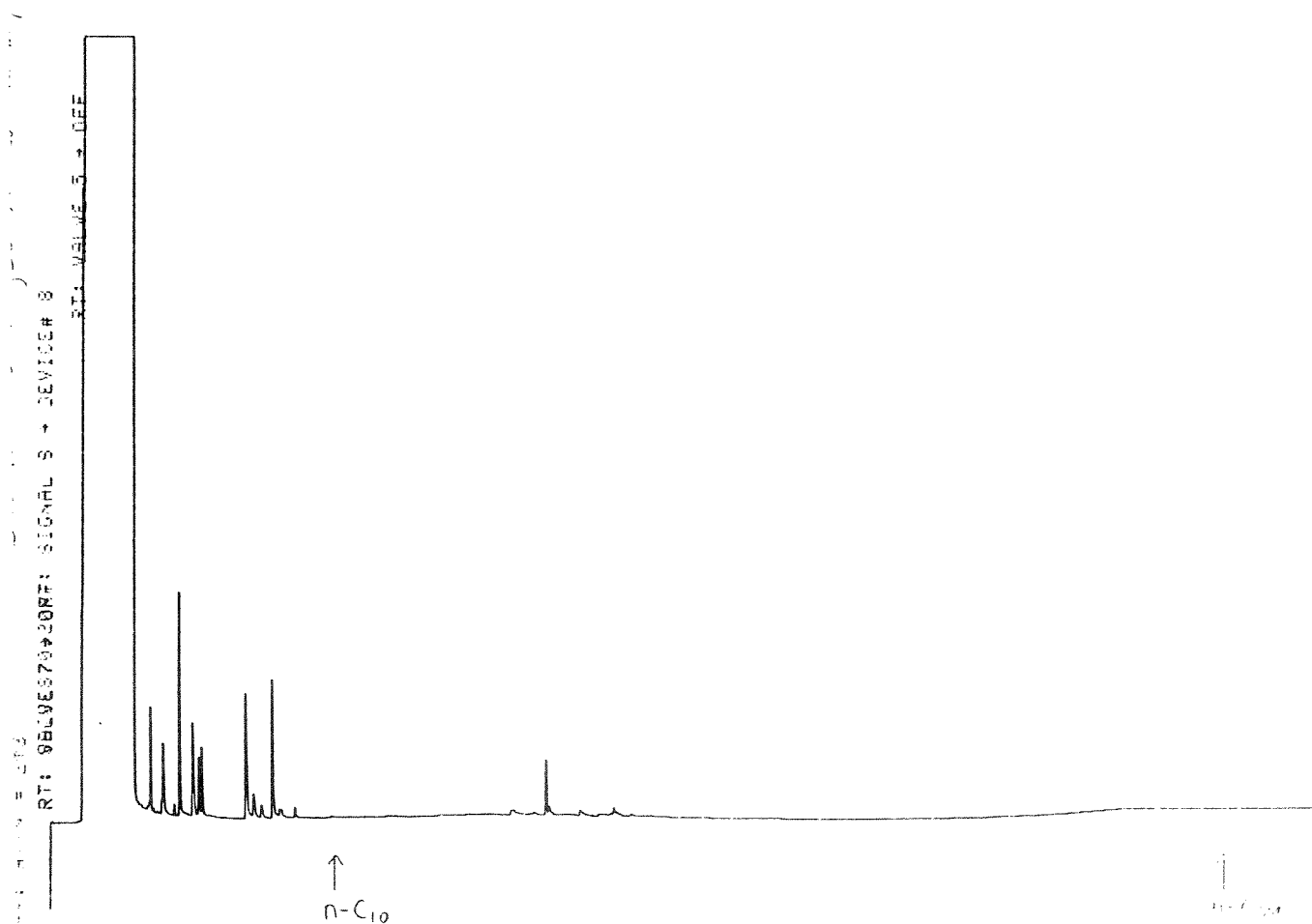
**Figur 1**

**Berol Nobel, Stenungsund før nedbryting**

**Prøvevolum: 2000 ml**

**Ekstraktvolum: 1 ml**

**Mengde hydrokarboner: 0.1 ppm**



**Figur 2**

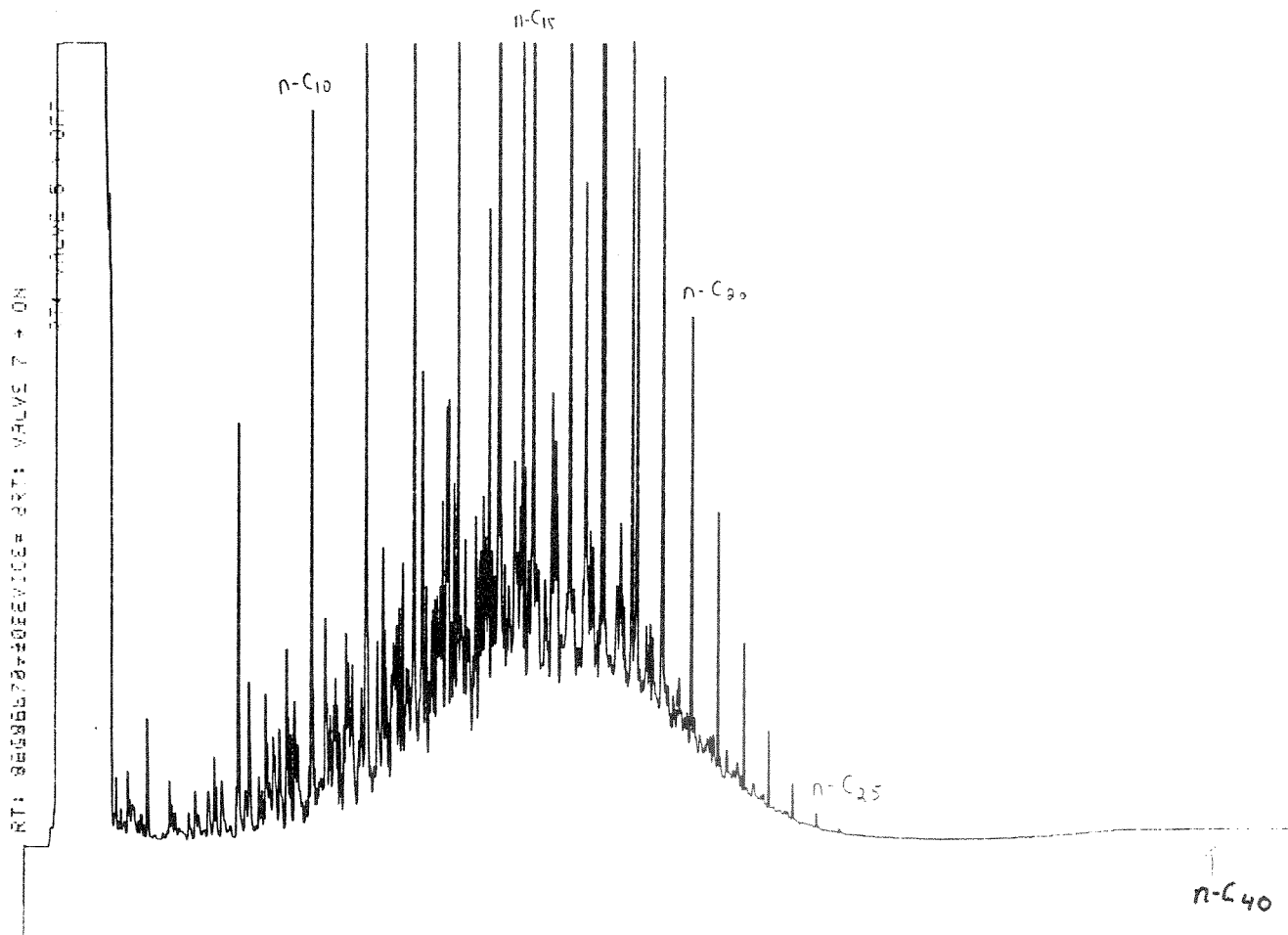
**Berol Nobel, Stenungsund etter nedbryting**

**Prøvevolum: 1982 ml**

**Ekstraktvolum: 1 ml**

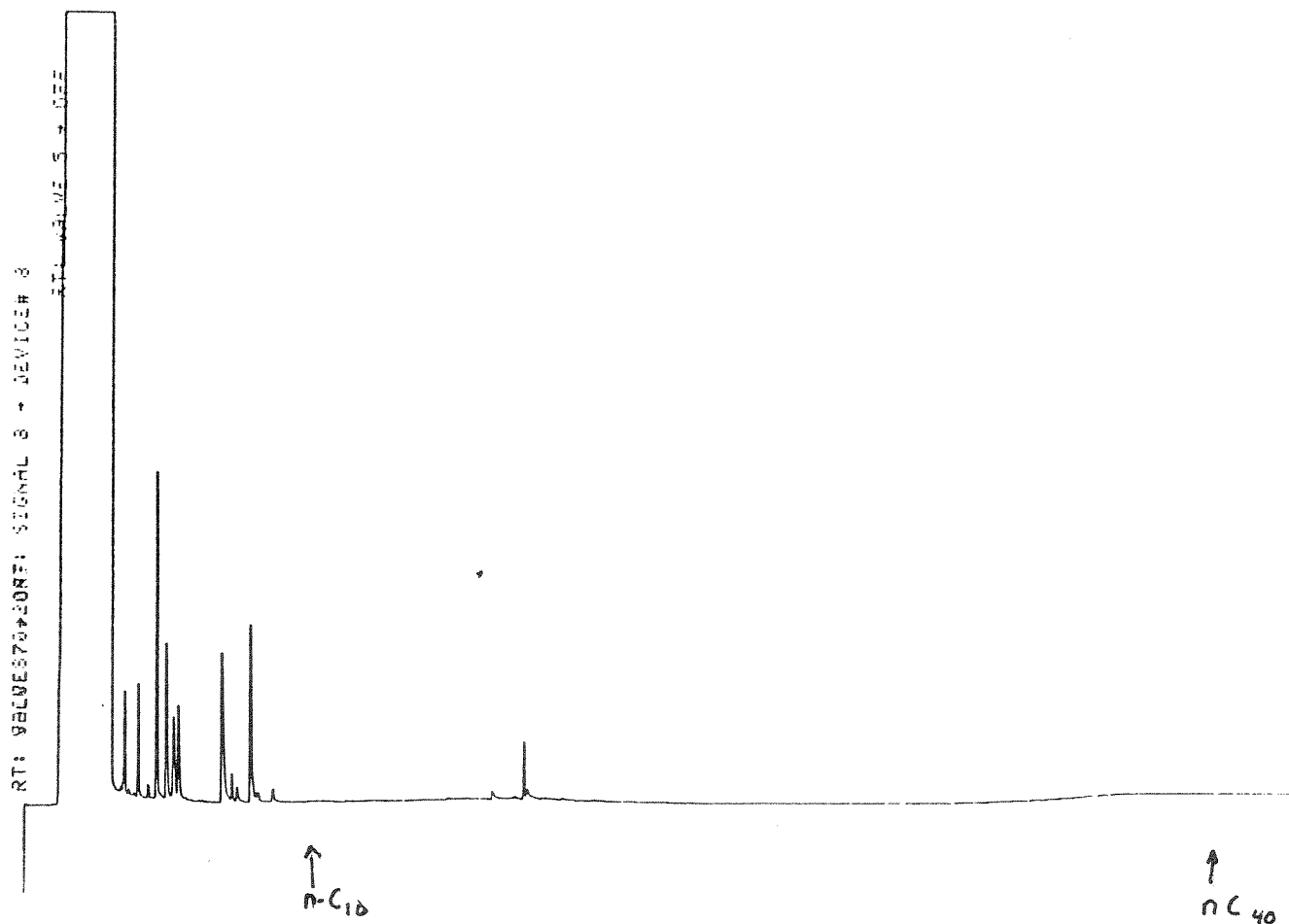
**Mengde hydrokarboner: < 0.05 ppm**





**Figur 12**

**Standard marin diesel**



**Figur 11**

**Blindprøve, springvann**

**Prøvevolum: 2000ml**

**Ekstraktvolum: 1 ml**

**Mengde hydrokarboner: < 0.05 ppm**

## APPENDIX 2

### Priority pollutants

900802 v/Bent Holstøl, SI

## RAPPORT

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

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

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

## RESULTAT

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

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

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

Kvantifiseringsgrenser og metodebeskrivelser er også vedlagt.

→ Med vennlig hilsen  
Senter for Industriforskning

Nina Gjøs

Hilde Drangsholt  
Hilde Drangsholt

Kopi gitt Bent Holstøl, SI.

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

MONO- OG BICYKLISKE AROMATER:      µG/L

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

POLYCYKLISKE AROMATISKE HYDROKARBONER:

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

KLORERTE AROMATER:

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

Tabell 2 (forts)

Prøve: Avløpsvann fra BEROL NOBEL, Stenungsund. 900618-1

FENOLER:	UG/L VANN
Fenol . . . . .	200.0 **
o-Kresol	
m-/p-Kresol	
2-Nitrofenol	
p-Nonylfenol . . . . .	1570.0 !
2,4,6-Triklorfenol	
Pentaklorfenol	
Tetraklorguajakol	

## PESTICIDER:

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

## FTALATER/ADIPATER:

Dimetylftalat  
Dietylftalat  
Di-n-butylftalat  
Butylbenzylftalat  
Di-(2-etylheksyl)ftalat . . . . . 49.0  
Di-(2-etylheksyl)adipat

## FOSFAT-ESTERE:

Tri-n-butylfosfat  
Trifenylfosfat  
Trikresylfosfat

## AROMATISKE NITROGEN-FORBINDELSER:

Nitrobenzen  
Difenylamin

## ETERE:

Dioksan . . . . . 500.0 !

\*\*\*) Mengdeangivelsen av fenol er usikker pga interferens mellom tilsatt intern standard, 10 ug deuterert fenol, og andre forbindelser i prøven.

Tabell 2 (forts)

Prøve: Avløpsvann fra BEROL NOBEL, Stenungsund. 900618-1

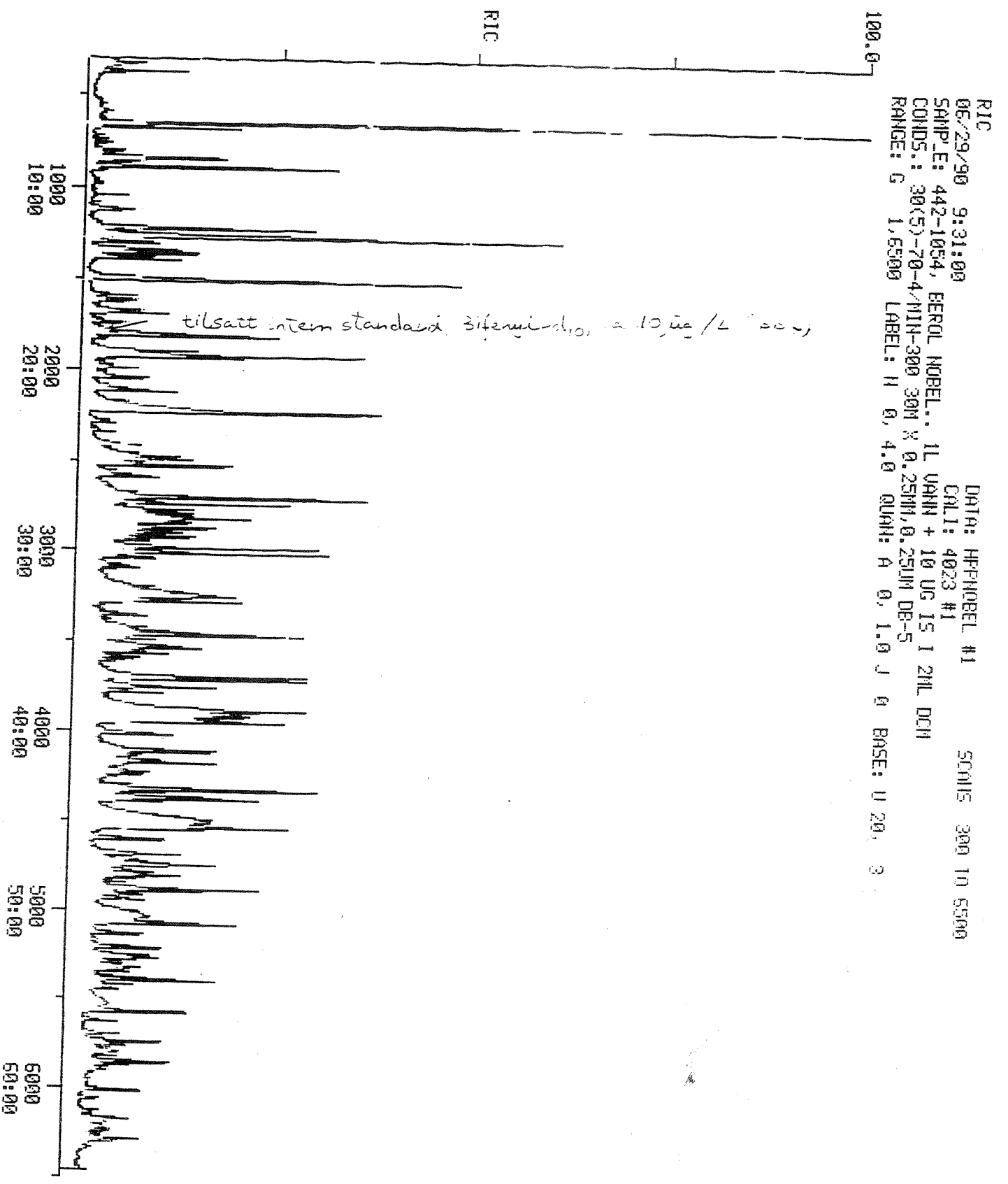
HALOGENERTE ALIFATER:

UG/L VANN

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

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

Figur 2. GC/MS-kromatogram av avløpsvann fra BEROL NOBEL, Stenungsund.  
900618-1



1777660.



Tabell 3: Kvantifiseringsgrenser

## ANALYSE AV PRIORITY POLLUTANTS

KVANTIFISERINGS-GRENSER: MONO- OG BICYKLISKE AROMATER:	UG/L		
BENZEN	10.00	-	100.
TOLUEN	10.00	-	100.
ETYLBENZEN	1.00	-	100.
M-/P-XYLEN	2.00	-	200.
O-XYLEN	1.00	-	100.
STYREN	1.00	-	100.
NAFTALEN	1.00	-	100.
2-METYLNAFTALEN	1.00	-	100.
1-METYLNAFTALEN	1.00	-	100.
2,3-DIMETYLNAFTALEN	1.00	-	100.
2,3,5-TRIMETYLNAFTALEN	1.00	-	100.
BIFENYL	1.00	-	100.
POLYCYKLISKE AROMATISKE HYDROKARBONER:			
DIBENZOFURAN	5.00	-	100.
FENANTREN	1.00	-	100.
DIBENZOTIOFEN	1.00	-	100.
PYREN	1.00	-	100.
FLUORANTEN	1.00	-	100.
BENZO (B) FLUOREN	5.00	-	100.
BENZO (A) ANTRACEN	5.00	-	100.
KRYSEN/TRIFENYLEN	5.00	-	100.
BENZO (E) PYREN	5.00	-	100.
BENZO (A) PYREN	5.00	-	100.
INDENO (1, 2, 3-C, D) PYREN	5.00	-	100.
BENZO (GHI) PERYLEN	5.00	-	100.
BENZO (B/J/K) FLUORANTEN	5.00	-	200.
KLORERTE AROMATER:			
KLORBENZEN	1.00	-	100.
1,3-DIKLORBENZEN	1.00	-	100.
1,4-DIKLORBENZEN	1.00	-	100.
1,2-DIKLORBENZEN	1.00	-	100.
1,2,4-TRIKLORBENZEN	1.00	-	100.
PENTAKLORBENZEN	1.00	-	100.
HEKSAKLORBENZEN	1.00	-	100.
OKTAKLORSTYREN	5.00	-	100.
TETRAKLORBIFENYL	5.00	-	500.
PENTAKLORBIFENYL	10.00	-	1000.
HEKSAKLORBIFENYL	5.00	-	500.
DIKLOR-P-CYMEN	5.00	-	100.

Tabell 3 (forts)

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

Tabell 3 (forts)

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

## METODEBESKRIVELSE

### PRIORITY POLLUTANTS I VANN

1 l vannprøve tilsettes 10 µg deutererte standarder (toluen-d<sub>8</sub>, naphalen-d<sub>8</sub>, bifenyl-d<sub>10</sub>, fenantren-d<sub>10</sub>, pyren-d<sub>10</sub>, krysen-d<sub>12</sub> og fenol-d<sub>8</sub>). Prøven blir ekstrahert med diklormetan først surt (pH=2), deretter basisk (pH 12). Ekstraktet dampes inn til 1 ml og analyseres med koblet gasskromatografi/- massespektrometri (GC/MS). Prøven kvantifiseres vha. standardløsninger opparbeidet likt med prøven.

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

#### Instrumentbetingelser

Massespektrometer	:	Finnigan 4023
Gasskromatograf	:	Finningan 9610
Datasystem	:	Super Incos, NOVA 4X
Disk-drive	:	Priam. 70M byte
GC-kolonne	:	30m x 0.25mm, 0,25µm DB-5

#### Temperaturer

Kolonne	:	30°C(5 min)-70°C-4°C/min-300°C(10 min <sup>^</sup> )
Injektor	:	270°C
Interface	:	250°C
Ionekilde	:	250°C

Bæregass	:	He
Ionisering	:	70 eV
Scan frekvens	:	0.6 sec/scan
Masseområde	:	35-400
Injeksjon	:	2 µl

## APPENDIX 3

### Bioackumuleringspotential

## Vedlegg

## METODE FOR BESTEMMELSE AV POTENSIELT BIOAKKUMULERBARE SUBSTANSER.

## Surt ekstrakt

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

I Fraksjon: Applikasjonssone

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

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

## Basisk ekstrakt

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

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

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

Testbetingelser ved GC-analysen:

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

Program:

Starttemp. 60°C, Henstand 2 min.

Oppvarmingshastighet 5°C

Sluttemp. 280°C, Henstand 8 min.

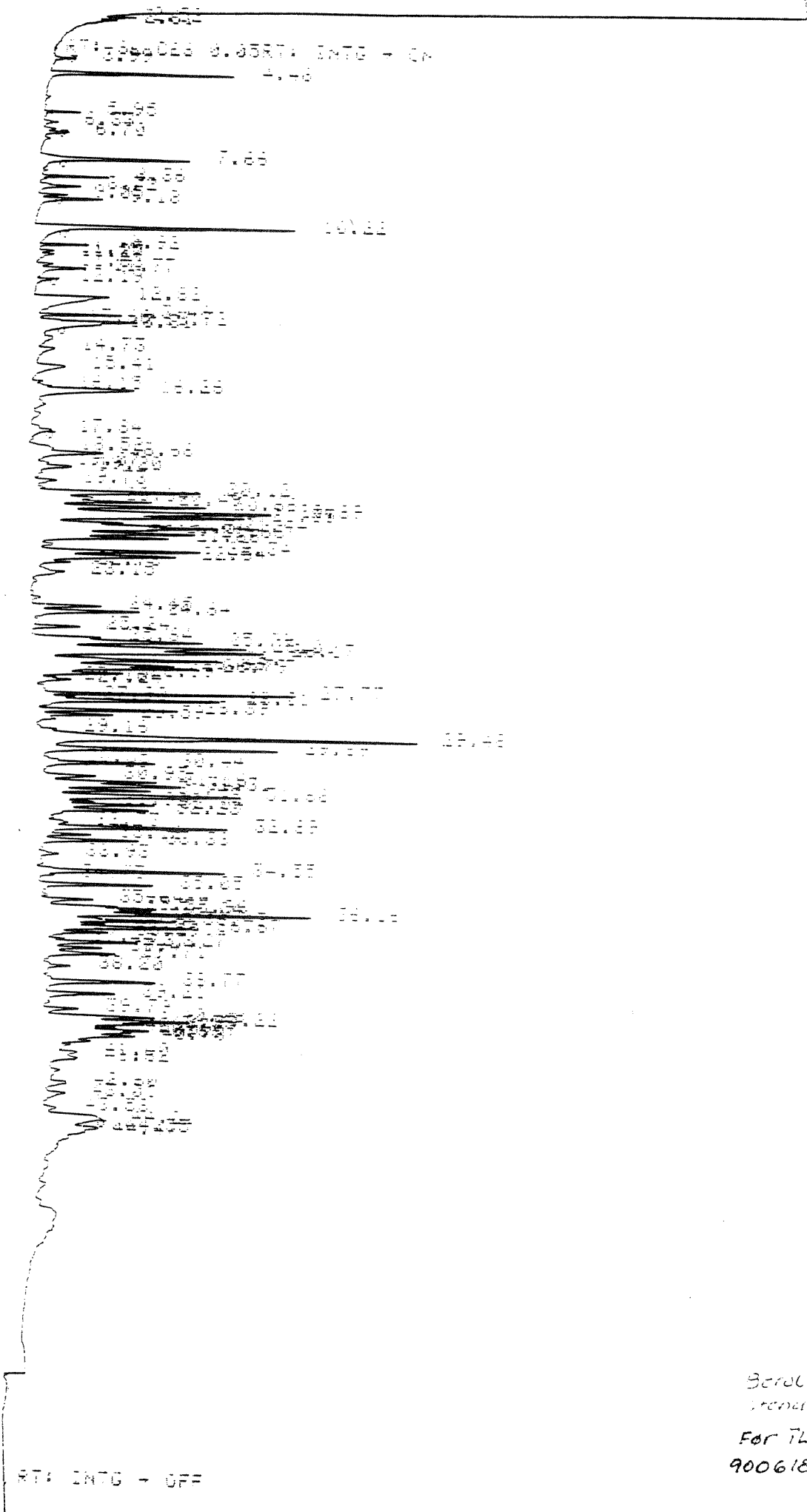
Attn. før TLC 2<sup>5</sup>

Attn. etter TLC 2<sup>3</sup>

Ytre standard n-C<sub>18</sub>H<sub>38</sub>=106,9µg/ml før TLC

Indre standard " " etter TLC

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

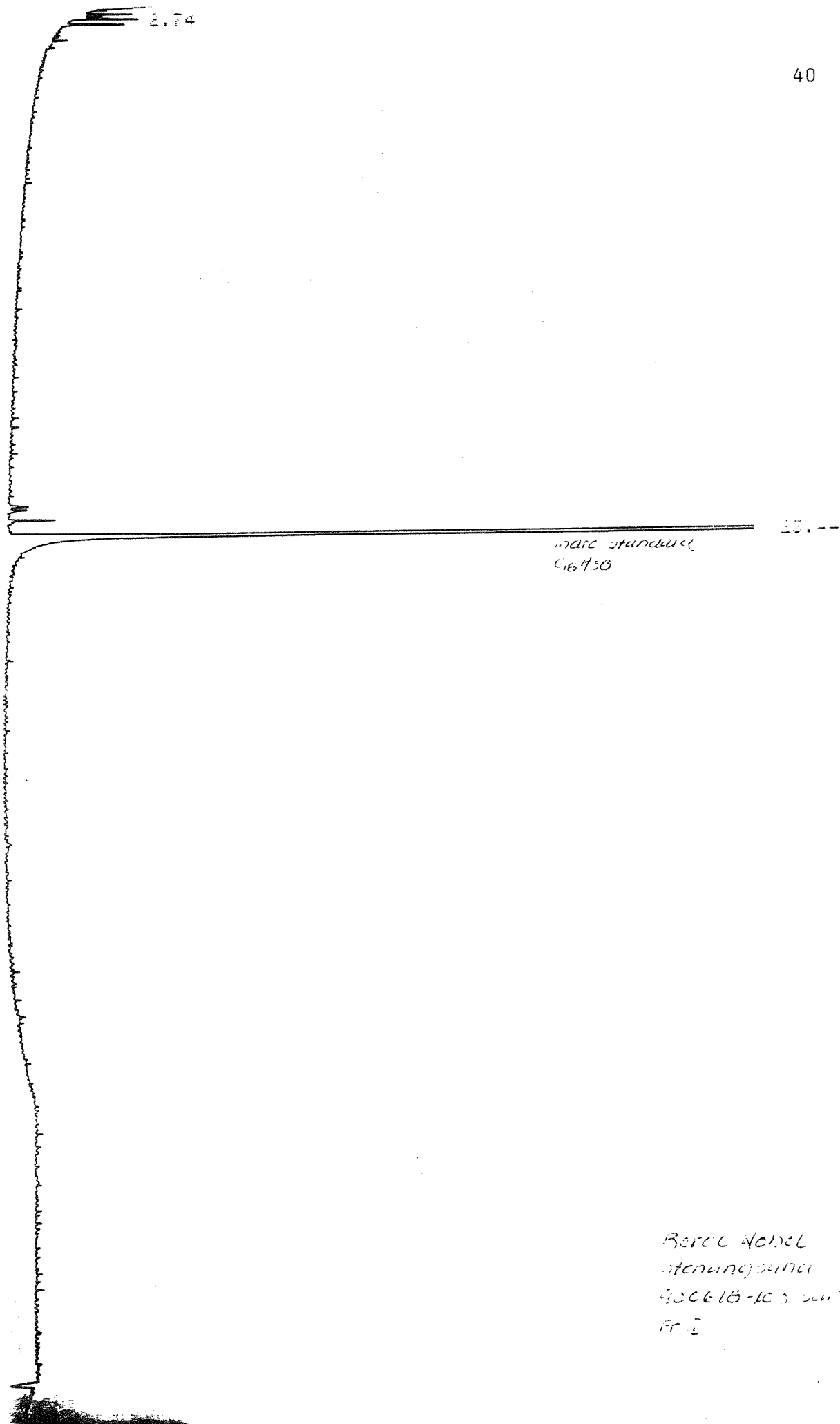


Serial Model  
 remaining  
 For TLC  
 900618-103.sur

RT: INTG - OFF

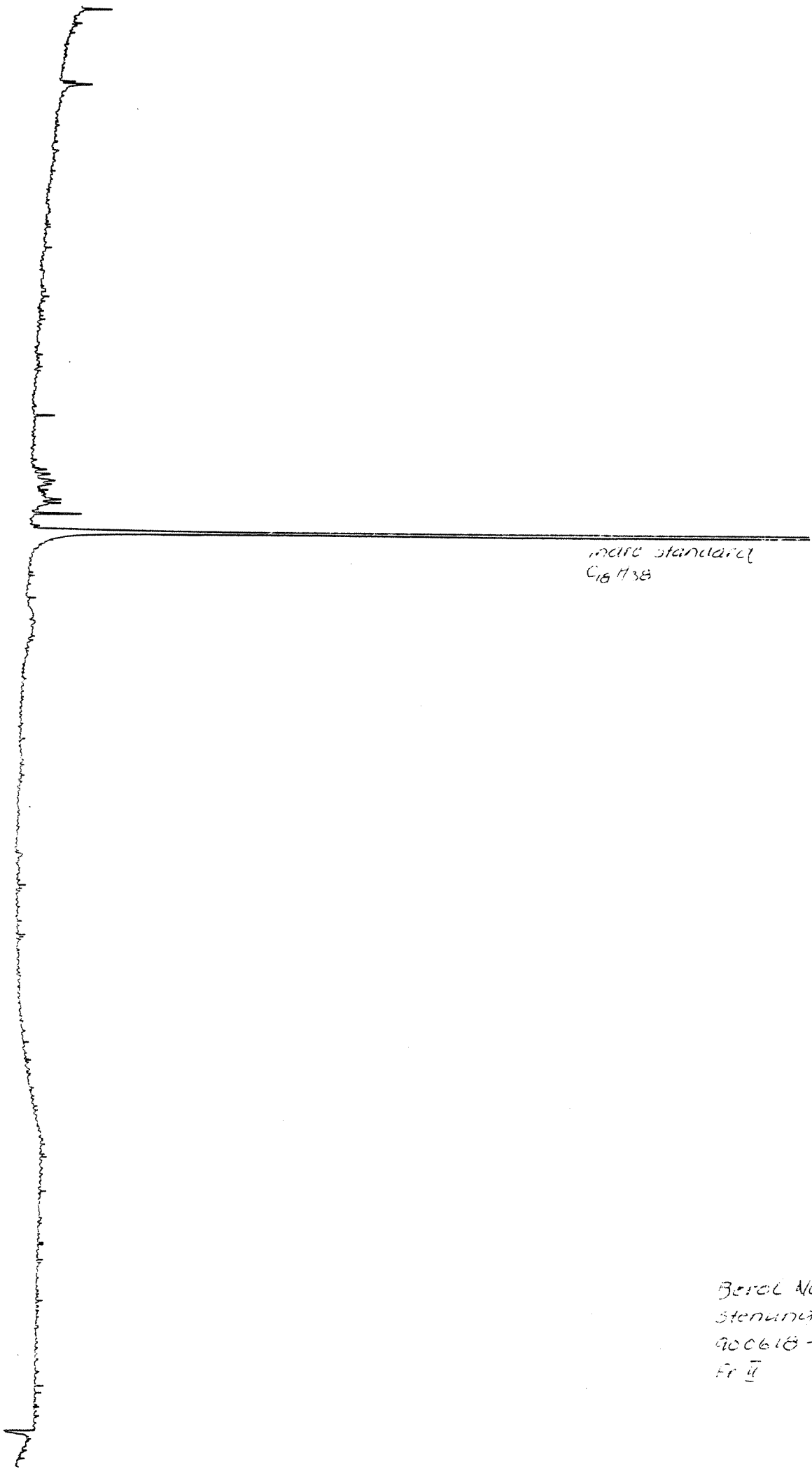






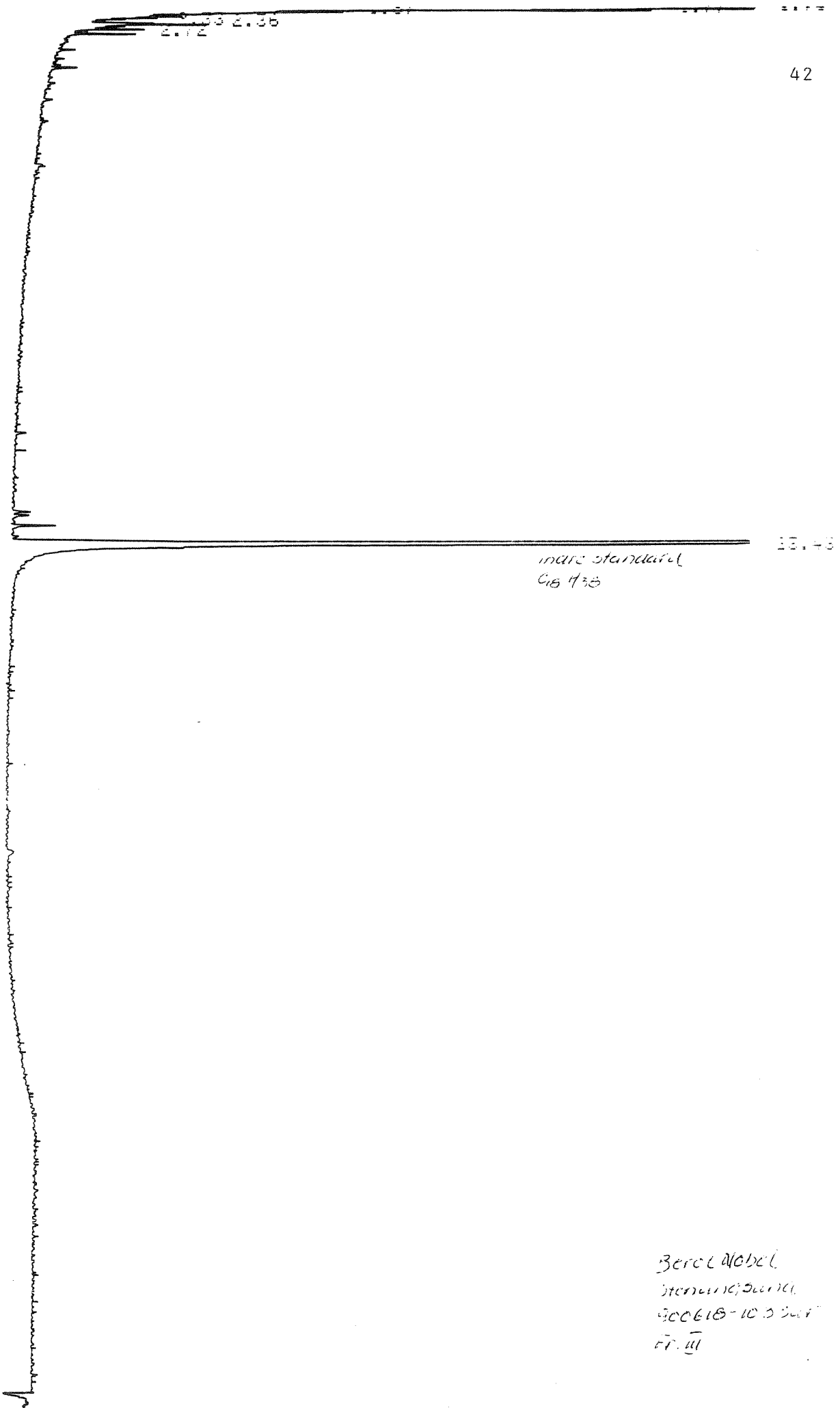
013

Bernd Nobel  
Stenungsund  
900618-10 5 sur  
ff. i



more standard  
C18H38

Berol Nobel  
stenunadund  
900618-10 3 200  
Fr II

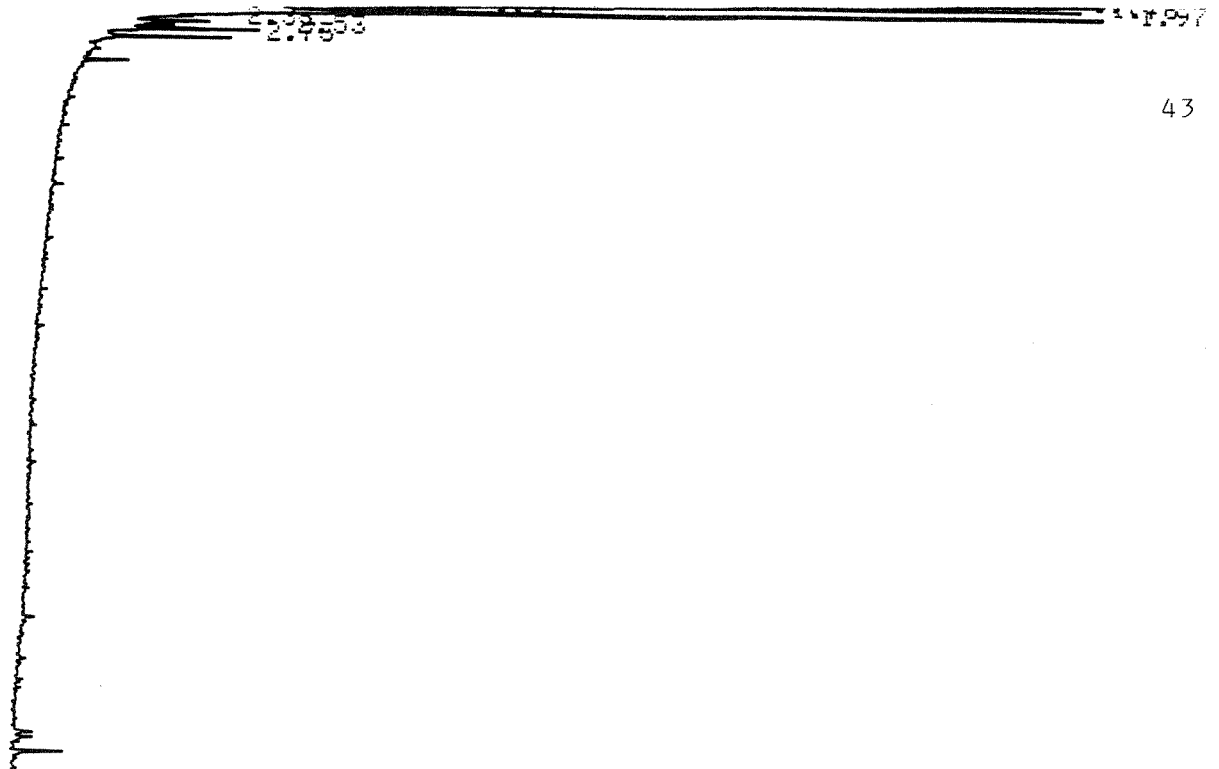


42

inert standard  
48.43

48.43

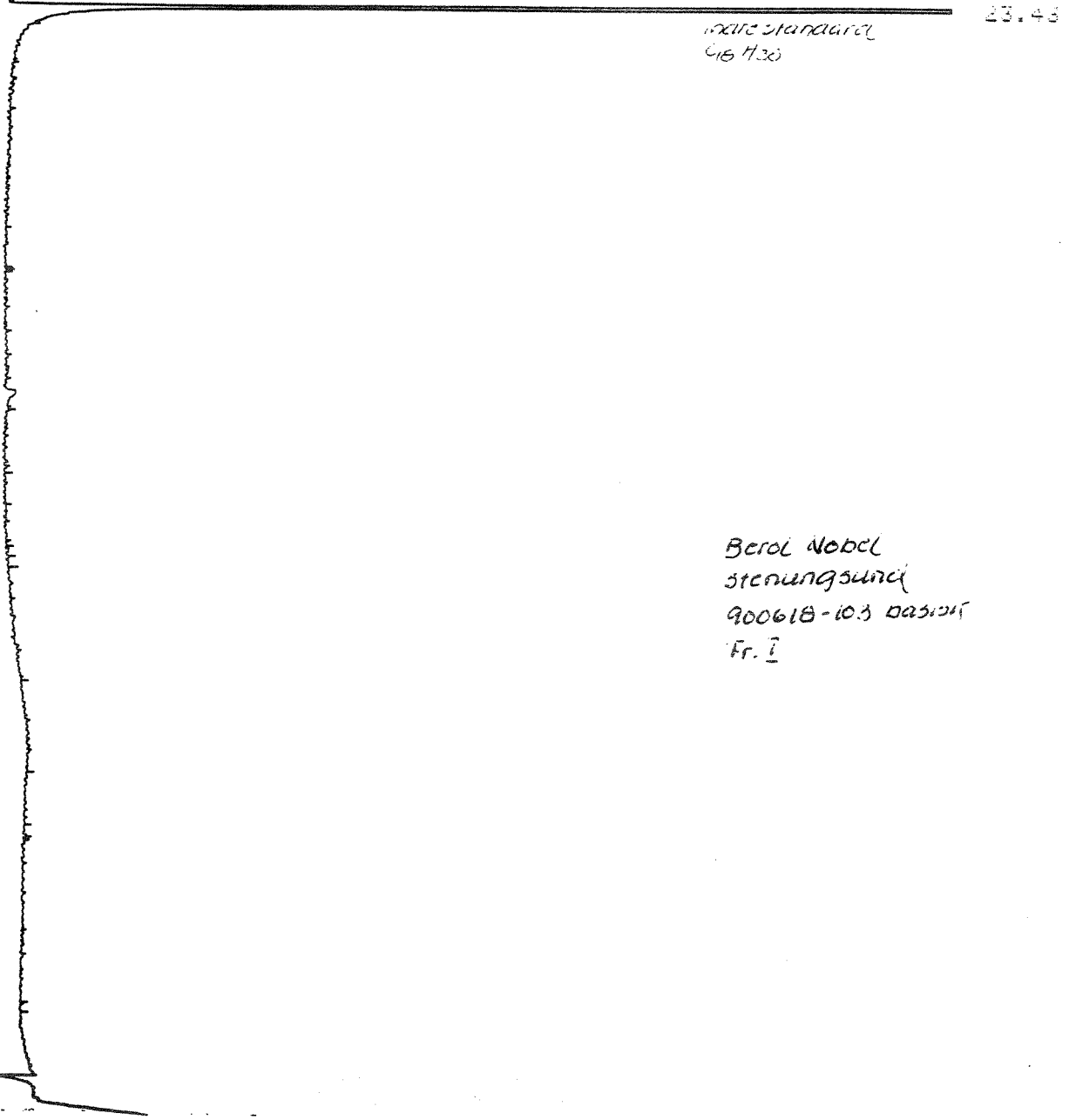
Bernd Nobel  
Stenlund, Daniel  
900618-10.3.2017  
Fr. III



2.753

1.1997

43

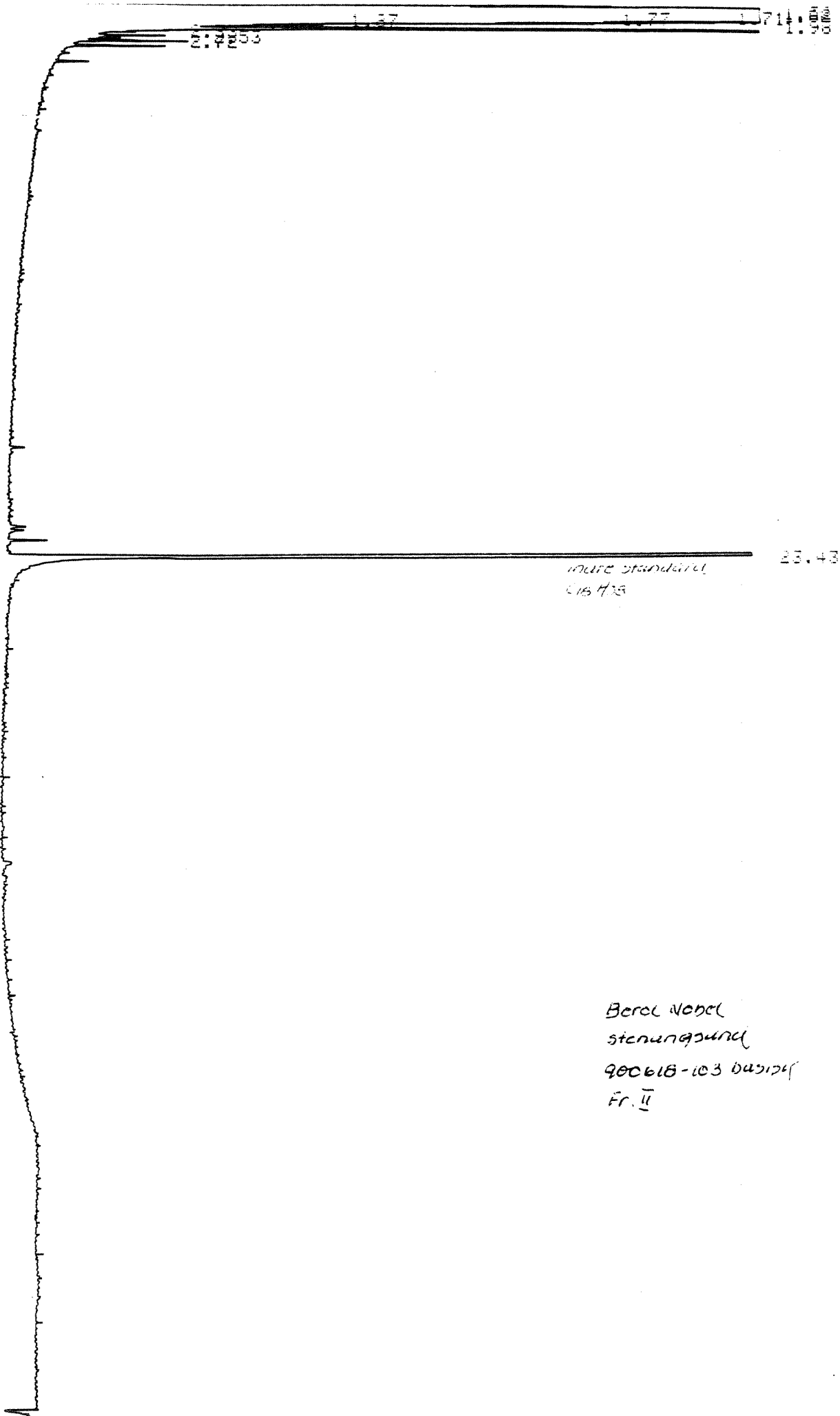


indite standard  
G16 H30

23.48

Berol Nobel  
Stenungsund  
900618-10.3 basis  
Fr. I

113



44

144

more standard  
2.15 H<sub>3</sub>

Berol Nobel  
stanungshund  
900618-103 045124  
Fr. II

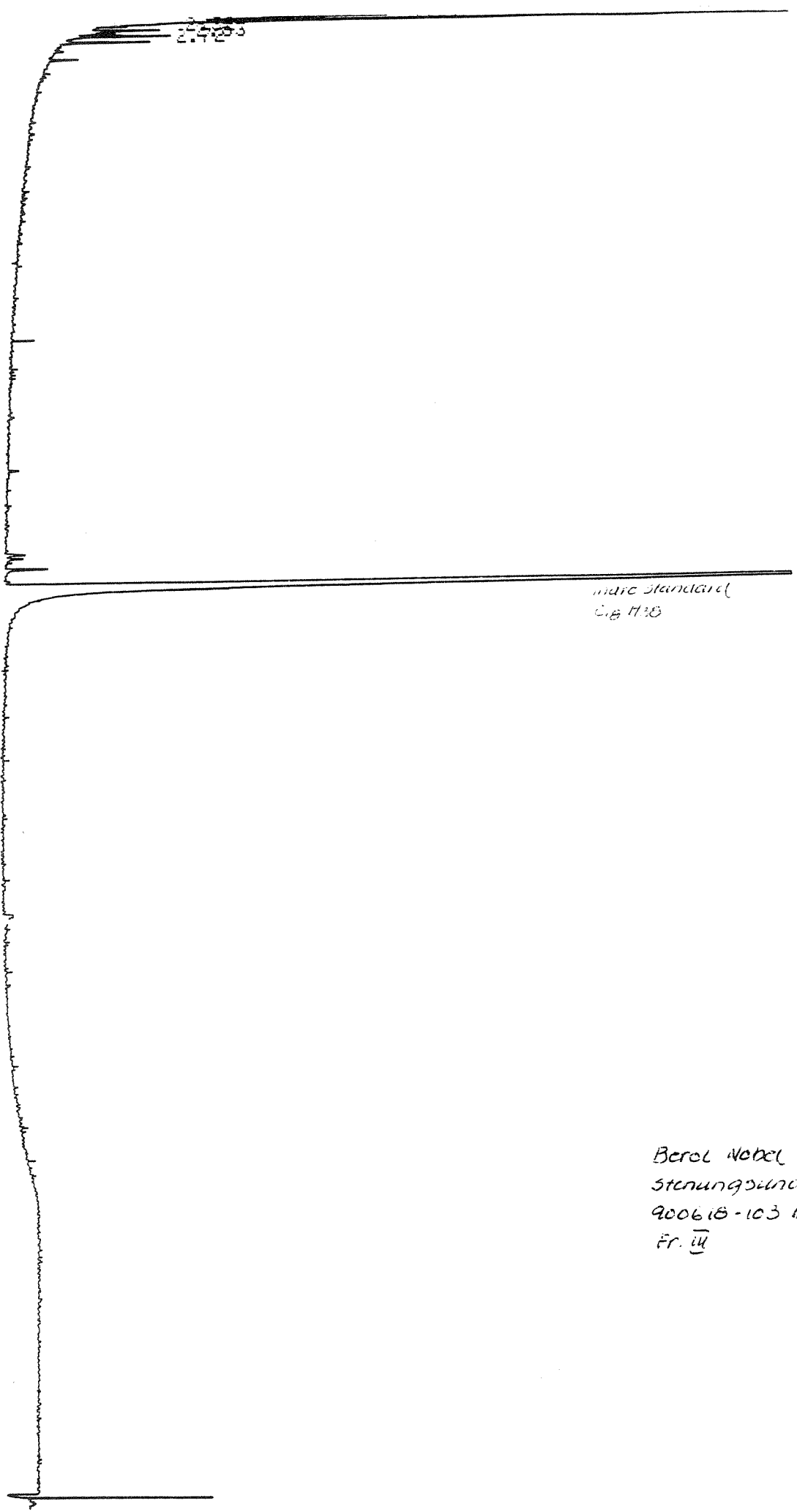
45

21.9200

23.43

marc standard  
C<sub>18</sub>H<sub>38</sub>

Berol Nobel  
Stenungsund  
900618-103 basistek  
Fr. 44



## APPENDIX 4

### Toxicitetstest med Aktivt slam



## TESTRAPPORT ISO 8192

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

TESTSTOFF: Avløpsvann, BEROL NOBEL, Stenungsund

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

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

TESTDATO: 18.06. 1990.

## BETINGELSER FOR TESTPRØVER:

Testkonsentrasjoner: 1. serie: 5,6 10, 18, 32, 56 og 90% avløpsvann.

2. serie:

Slamkonsentrasjon i testprøvene; 1. testserie: 80 mg STS/L

2. testserie:

pH i testløsningene: 7,4

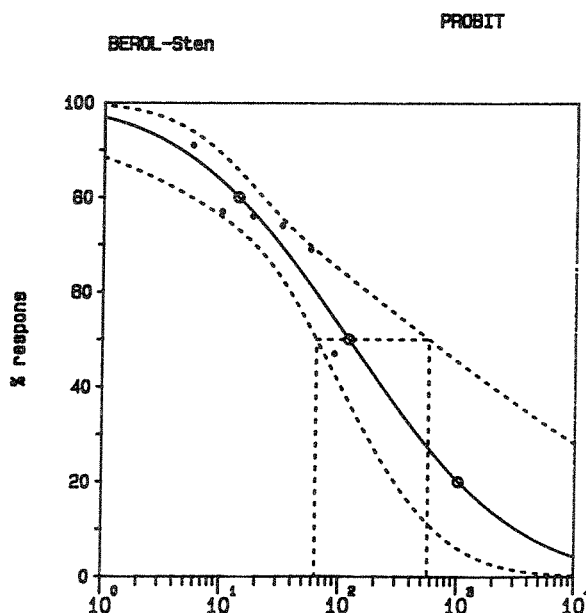
Testtemperatur:  $20 \pm 2^\circ \text{C}$ Abiotisk oksygenforbruk i fysisk-kjemisk kontroll  $< 0,1 \text{ mg/L}$ REFERANSESTOFF: 3,5-diklorfenol:  $\text{EC}_{50}$ -verdi på testslammet: 6,2 mg/L

## RESULTATER:

$\text{EC}_{50}$	95% konfidensintervall	$\text{EC}_{20}$	$\text{EC}_{80}$
Ca 100 %		14 %	

## Kommentarer:

Det ble registrert hemning på respirasjonsaktiviteten over et relativt bredt konsentrasjonsområde, uten at eksakt  $\text{EC}_{50}$  kan beregnes og opptegnes i probit diagrammet.



## APPENDIX 5

### Toxicitetstester med Microtox

## MICROTOX, STANDARD METODE

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

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

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

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

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

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

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

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

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

## UTREGNING AV EC-VERDIEN

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

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

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

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

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

$$A_f = 3.1 \ln \frac{10}{v}$$

## MICROTOX, 100%-SCREENING METODE

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

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

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

Følgende formel ble benyttet ved utregningen:

Lysreduksjon i %:

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

MICROTOX(r) DATA SHEET

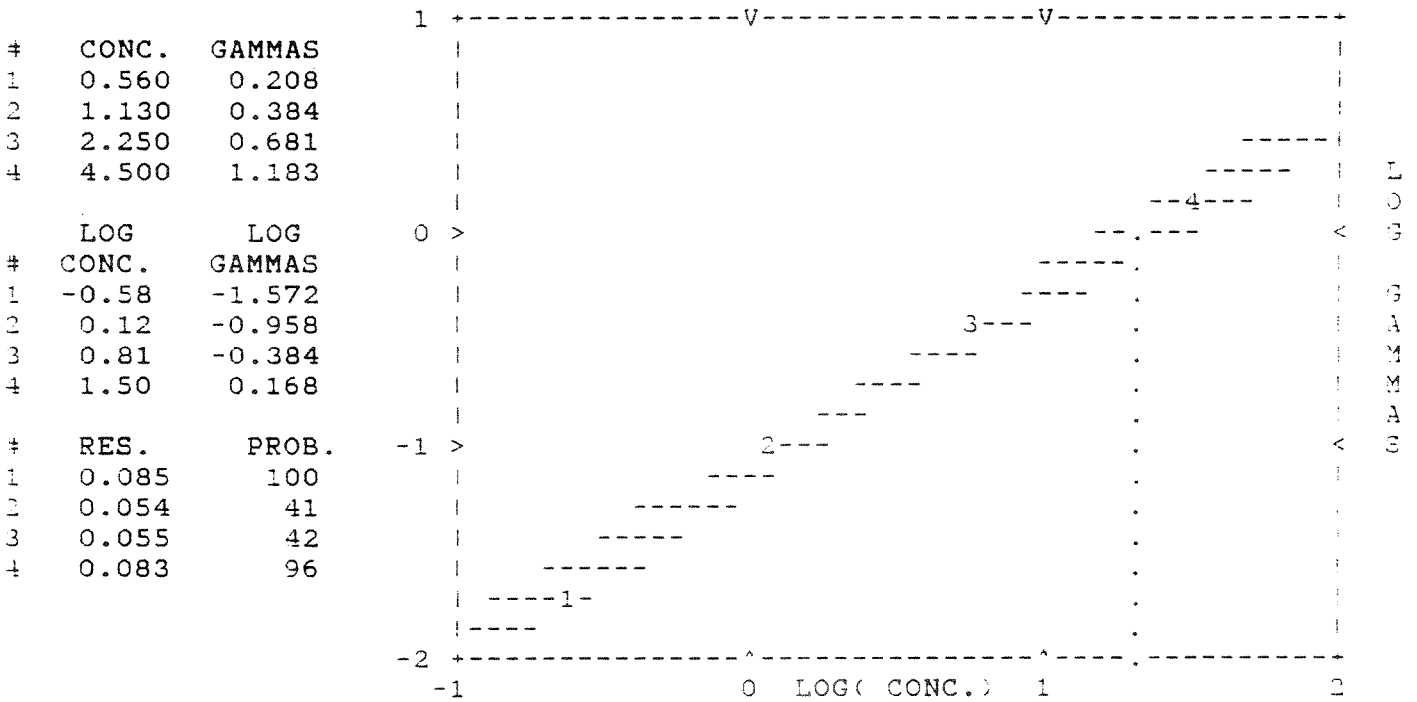
Berol Nobel, ukeprøve, Stenungsund, Fort. 1:10, 5min. 26/6-90

PAIR #	CONC.	Io/It	G-OBS	G-EST
1	0.560	86.7/ 67.9	0.208	0.210
2	1.130	87.2/ 59.6	0.384	0.378
3	2.250	86.4/ 48.6	0.681	0.672
4	4.500	83.8/ 36.3	1.183	1.200

BLANK Bo/Bt= 84.8 / 80.2  
 BLANK RATIO= 0.9458

EC 50 = 3.618 ( 3.364 TO 3.891 )  
 EC 20 = 0.688 ( 0.640 TO 0.741 )  
 EC 80 = 19.015 ( 16.085 TO 22.478 )

R = 0.99978 SLOPE = 1.1970 INTERCEPT = +1.2859



MICROTOX is a Registered Trade Mark of the Microbics Corporation.

MICROTOX(r) DATA SHEET

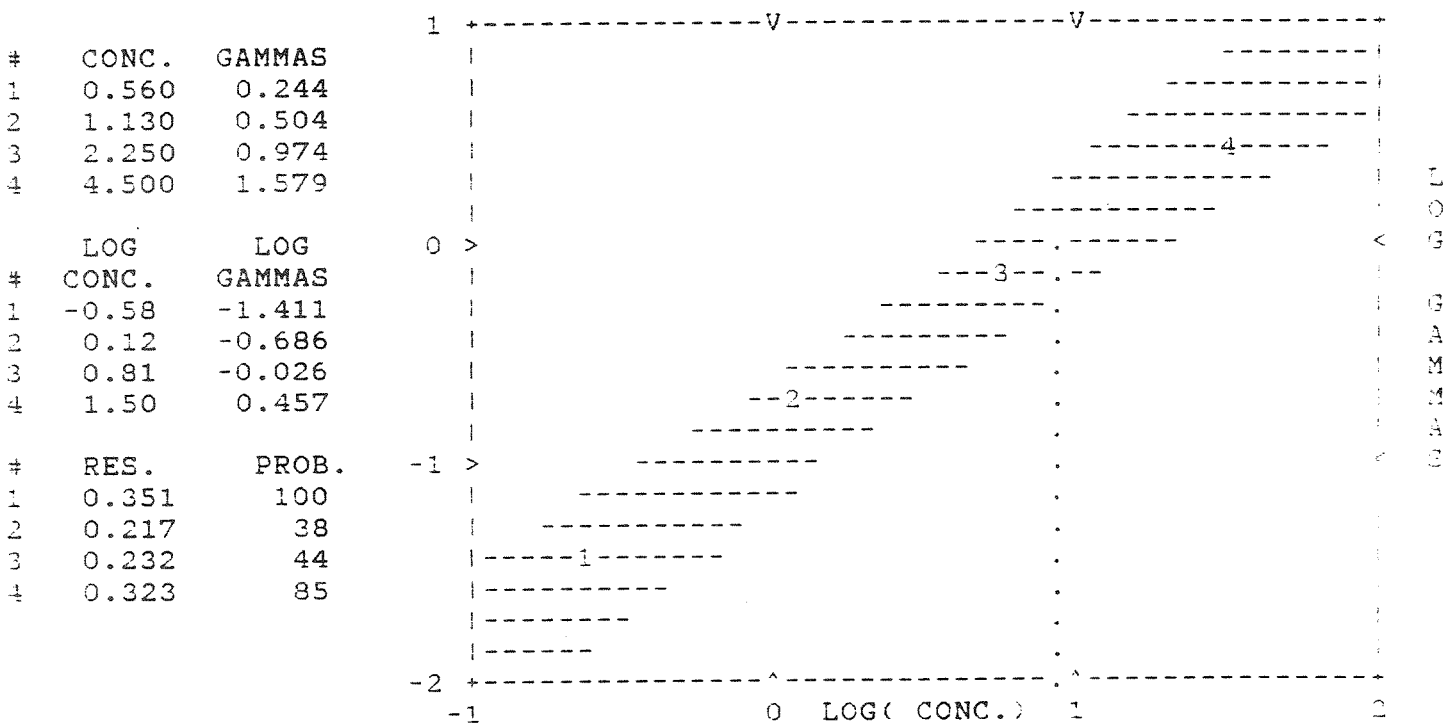
Berol Nobel, ukeprøve, Stenungsund, Fort. 1:10, 15min. 26/6-90

PAIR #	CONC.	Io/It	G-OBS	G-EST
1	0.560	86.7/ 63.7	0.244	0.257
2	1.130	87.2/ 53.0	0.504	0.484
3	2.250	86.4/ 40.0	0.974	0.901
4	4.500	83.8/ 29.7	1.579	1.685

BLANK Bo/Bt= 84.8 / 77.5  
 BLANK RATIO= 0.9139

EC 50 = 2.516 ( 1.988 TO 3.184 )  
 EC 20 = 0.548 ( 0.388 TO 0.773 )  
 EC 80 = 11.559 ( 6.620 TO 20.183 )

R = 0.99632 SLOPE = 1.0999 INTERCEPT = +0.9226



MICROTOX is a Registered Trade Mark of the Microbics Corporation.

100% - lysning

DATO	10/8-90
FØLSOMHET	x1
BATCH	910
KLØRTAV	β40

PRØVE	Buol Nobel eller needr. stengungsul?
UL	SL
pH i UL	_____ korr. tLL _____
med	

$\bar{J}_{05}$	$\bar{J}_5$
87.5	77.3
76.1	77.2
73.2	74
$\bar{X}_{05}$	$\bar{X}_5$
78.9	76.1
$\bar{T}_5$	$A_5$
	3.5%

$\bar{J}_{015}$	$\bar{J}_{15}$
86.8	75.2
81.8	74.8
79.8	71
$\bar{X}_{015}$	$\bar{X}_{15}$
$\bar{T}_{15}$	$A_{15}$

Beregninger:

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

Lysminskning i %

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



## APPENDIX 6

### Toxicitetstest med *Selenastrum capricornutum*

## NORSK INSTITUTT FOR VANNFORSKNING

## TOKSISITETSTEST MED ALGER

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

Prøve: Avløpsvann fra Berol Nobel, Stenungsund, blandprov 9/4 - 12/6 1990.

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

Test Start dato: 18/6-90 Varighet: 72 t  
dok: Testede konsentrasjoner: 5.6, 10, 18, 32, 56 og 90 %

Inku- 50 ml kulturer i 100 ml rundkolber. Inkubert på gyngebord  
bering: Lys: 70  $\mu\text{E}/\text{m}^2/\text{s}$ , kontinuerlig fra "dagslys"-lysstoffrør  
Temperatur: 20 °C  
pH i kontroll ved start: 7.2, pH ved slutt: 8.5  
Måling av celletetthet: Partikkel telling med  
Coulter Multisizer


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

	Veksthastighet	Areal under vekstkurve
EC <sub>50</sub> :	1.4%	0.46 %
95 % koinf. lim.	1.2 - 1.6 %	0.37 - 0.57 %
NOEC	<0.32 %	<0.32 %

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

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

Testansvarig:

  
Torsten Käflqvist

TEST:&gt;&gt; ISO/DIS 8692

Dato&gt;&gt;&gt; 18.6.90

TESTSTOFF&gt;&gt;&gt;&gt; Berol Nobel Stenungsund

TESTALGE&gt;&gt;&gt;&gt; Selenastrum capricornutum

Medium&gt; ISO

INOKULUM&gt;&gt;&gt;&gt;

10 mill. celler/l

Timer:		Dag 1	Dag 2	Dag 3	Areal	Areal %	V. hast.	V. hast %
		24 mill/l	48 mill/l	72 mill./l				
Kons. 1 %	10	28	45	15	1332	4	0.14	8
		21	42	14	1080	3	0.11	6
		26	35	20	1104	3	0.23	13
Kons.2 %	5.6	34	37	28	1440	4	0.34	19
		32	36	28	1368	4	0.34	19
		32	36	28	1368	4	0.34	19
Kons. 3 %	3.2	34	35	34	1464	4	0.41	23
		33	35	34	1440	4	0.41	23
		34	23	38	1224	4	0.45	25
Kons. 4 %	1.8	42	44	60	2184	6	0.60	34
		41	49	58	2256	6	0.59	33
		42	50	54	2256	6	0.56	32
Kons. 5 %	1	43	62	92	3024	9	0.74	42
		48	62	92	3144	9	0.74	42
		48	69	130	3768	11	0.85	48
Kons. 6 %	0.56	52	120	425	8628	25	1.25	70
		51	127	562	10416	30	1.34	76
		50	131	576	10656	31	1.35	76
Kons. 7 %	0.32	50	212	1380	22248	64	1.64	93
		59	280	1460	25056	72	1.66	94
		53	266	1410	23976	69	1.65	93
Kontroll		63	416	2110	36216	104	1.78	101
		59	386	2090	35160	101	1.78	100
		54	376	2450	39120	112	1.83	103
		66	388	1930	33456	96	1.75	99
		62	364	1850	31824	91	1.74	98
		62	394	1940	33624	96	1.76	99

## MIDDELVERDIER

10.00 Mv:	25.00	40.67	16.33	1172.00	3.36	0.16	8.98
St. d.	2.94	4.19	2.62	113.56	0.33	0.05	2.90
5.60 Mv.	32.67	36.33	28.00	1392.00	3.99	0.34	19.34
St. d.	0.94	0.47	0.00	33.94	0.10	0.00	0.00
3.20 Mv.	33.67	31.00	35.33	1376.00	3.94	0.42	23.68
St. d.	0.47	5.66	1.89	107.93	0.31	0.02	0.98
1.80 Mv.	41.67	47.67	57.33	2232.00	6.40	0.58	32.78
St. d.	0.47	2.62	2.49	33.94	0.10	0.01	0.82
1.00 Mv.	46.33	64.33	104.67	3312.00	9.49	0.78	43.84
St. d.	2.36	3.30	17.91	326.14	0.93	0.05	3.06
0.56 Mv.	51.00	126.00	521.00	9900.00	28.37	1.31	74.07
St. d.	0.82	4.55	68.12	904.76	2.59	0.05	2.59
0.32 Mv.	54.00	252.67	1416.67	23760.00	68.08	1.65	93.03
St. d.	3.74	29.32	33.00	1156.49	3.31	0.01	0.44
Kontroll Mv.	61.00	387.33	2061.67	34900.00	100.00	1.77	100.00
St. d.	3.74	16.03	196.16	2337.48	6.70	0.03	1.72

### Berol Nobel, Stenungsund Selenastrum, vekstkurver

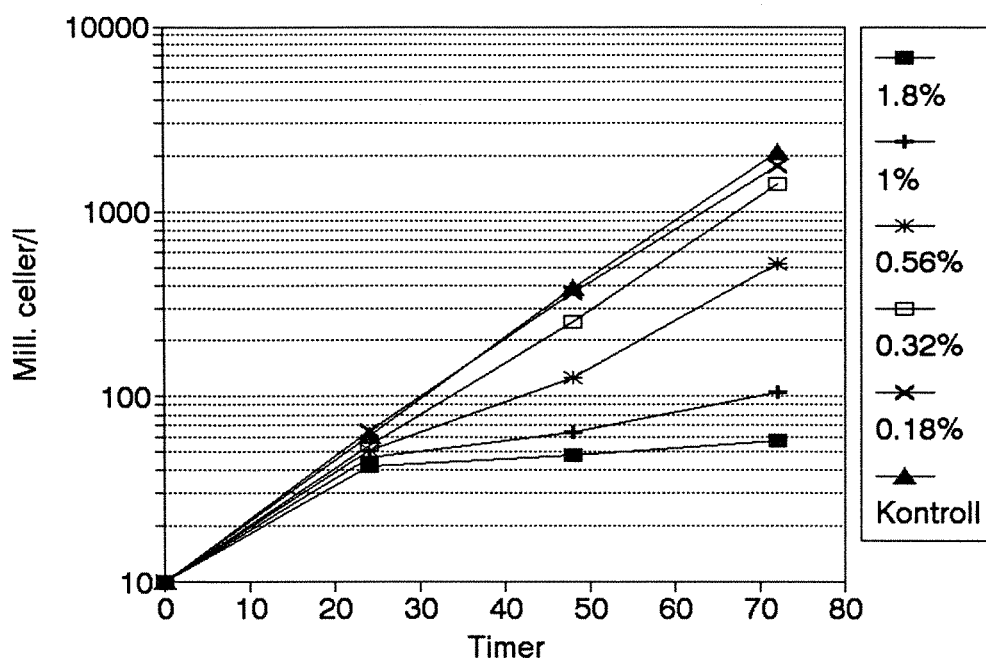


Fig. 1. Vekstkurver for *Selenastrum capricornutum* i ulike konsentrasjoner av avløpsvann.

### Berol Nobel, Stenungsund *Selenastrum*, veksthastighet

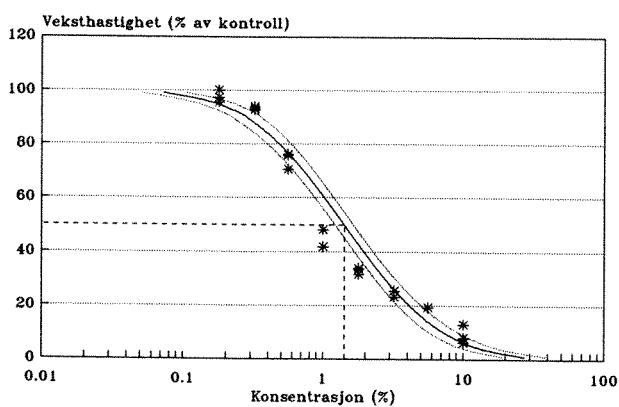


Fig. 2. Effekt av avløpsvann på veksthastigheten hos *Selenastrum capricornutum*

### Berol Nobel, Stenungsund *Selenastrum*, areal under vekstkurve

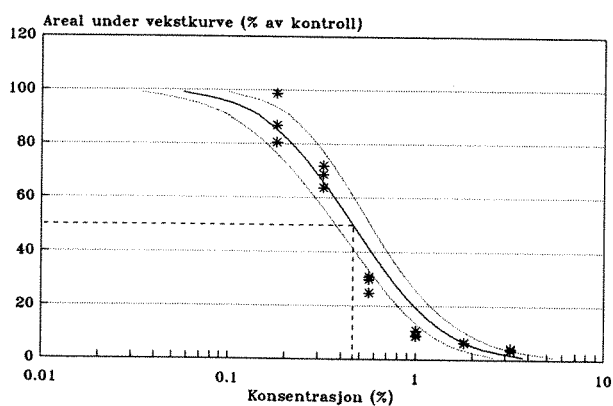


Fig. 3. Effekt av avløpsvann på areal under vekstkurve for *S. capricornutum*

## NORSK INSTITUTT FOR VANNFORSKNING

## TOKSISITETSTEST MED ALGER

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

Prøve: Avløpsvann fra Berol Nobel, Stenungsund, blandprov 9/4 - 12/6 1990. etter nedbrytbarhetstest, fortynnet 1:3.33.

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

Test Start dato: 18/6-90 Varighet: 72 t  
dok: Testede konsentrasjoner: 18, 32, 56, 90 % (av fortynnet avløpsvann 1:3.33).

Inku- 50 ml kulturer i 100 ml rundkolber. Inkubert på gyngebord  
bering: Lys: 70  $\mu\text{E}/\text{m}^2/\text{s}$ , kontinuerlig fra "dagslys"-lysstoffrør  
Temperatur: 20 °C  
pH i kontroll ved start: 7.2, pH ved slutt: 8.5  
Måling av celletetthet: Partikkel telling med  
Coulter Multisizer

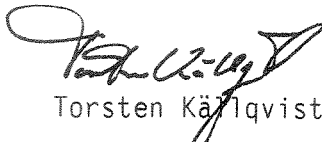
Resultat: Tabell 1 viser celletetthet ved hvert målepunkt, beregnet areal under vekstkurven og veksthastighet i hver kolbe. Middelerverdier for hver konsentrasjon og for kontrollene er listet nederst i tabellen. Vekstkurvene for hver konsentrasjon er vist i figur 1. Konsentrasjon/respons-kurver for veksthastighet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

	Veksthastighet	Areal under vekstkurve
EC <sub>50</sub> :	41 %	25 %
95 % koinf. lim.	36 - 47 %	21 - 30 %
NOEC	17 %	17 %

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

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

Testansvarig:

  
Torsten Kärlqvist

TEST:&gt;&gt; ISO/DIS 8692

Dato&gt;&gt;&gt; 6.8.90

TESTSTOFF&gt;&gt;&gt;&gt; Berol, Stenungsund, etter nedbrytning

TESTALGE>>>>> *Selenastrum capricornutum*

Medium&gt; ISO

INOKULUM&gt;&gt;&gt;&gt;&gt; 12 mill. celler/l

Timer:	Dag 1	Dag 2	Dag 3	Areal	Areal %	V. hast.	V. hast %
	24 mill/l	48 mill/l	72 mill./l				
Kons. 1 "27% (90% fortynnet)	38	150	506	9864	38	1.25	80
	44	166	463	9876	38	1.22	78
	47	198	524	11448	44	1.26	81
Kons. 2 "16.8% (56% fortynnet)	56	372	1410	26472	102	1.59	102
	57	348	1090	22080	85	1.50	96
	57	378	1290	25200	97	1.56	100
Kons. 3 "9.6% (32% fortynnet)	64	510	1620	32496	126	1.64	105
	66	480	1670	32424	125	1.65	105
	65	467	1540	30528	118	1.62	104
Kons. 4 "5.4% (18% fortynnet)	70	481	2130	38064	147	1.73	111
	70	477	1960	35928	139	1.70	109
	68	491	2280	40056	155	1.75	112
Kons. 5							
Kons. 6							
Kons. 7							
Kontroll	72	421	1000	23112	89	1.47	94
	73	409	1280	26208	101	1.56	100
	72	425	1110	24528	95	1.51	97
	64	347	1200	23544	91	1.54	98
	65	320	1550	27120	105	1.62	104
	69	335	1800	30576	118	1.67	107

## MIDDELVERDIER

"27%	Mv:	43.00	171.33	497.67	10396.00	40.22	1.24	79.52
	St. d.	3.74	19.96	25.59	743.89	2.88	0.02	1.11
"16.8%	Mv.	56.67	366.00	1263.33	24584.00	95.11	1.55	99.32
	St. d.	0.47	12.96	131.99	1845.18	7.14	0.04	2.28
"9.6%	Mv.	65.00	485.67	1610.00	31816.00	123.09	1.63	104.61
	St. d.	0.82	18.01	53.54	911.23	3.53	0.01	0.71
"5.4%	Mv.	69.33	483.00	2123.33	38016.00	147.08	1.72	110.49
	St. d.	0.94	5.89	130.72	1685.59	6.52	0.02	1.32
0.00	Mv.							
	St. d.							
0.00	Mv.							
	St. d.							
0.00	Mv.							
	St. d.							
Kontroll	Mv.	69.17	376.17	1323.33	25848.00	100.00	1.56	100.00
	St. d.	3.53	43.15	272.56	2537.65	9.82	0.07	4.25

## Berol Nobel, etter nedbrytning Senastrum, vekstkurver

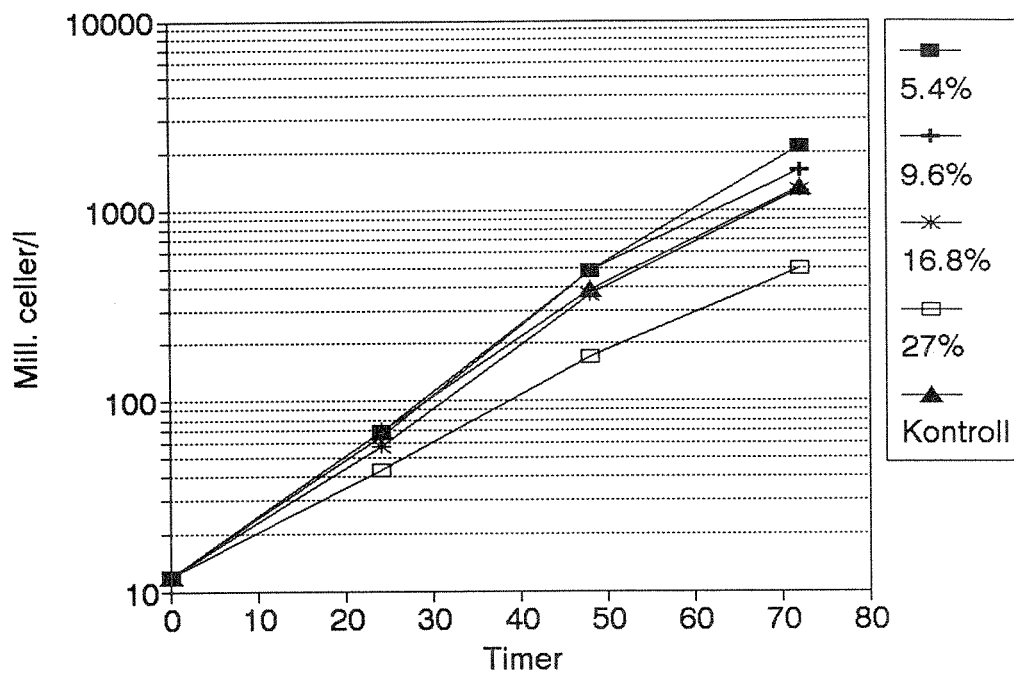


Fig. 1. Vekstkurver for *Senastrum capricornutum* i ulike konsentrasjoner av avløpsvann.

## Berol Nobel etter nedbrytning *Senastrum*, veksthastighet

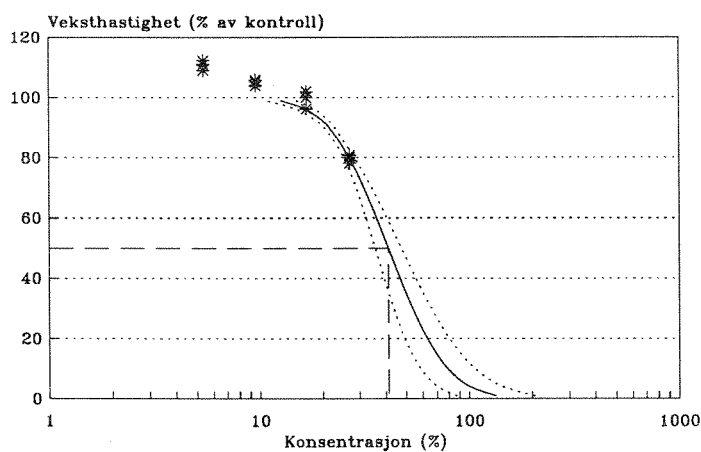


Fig. 2. Effekt av avløpsvann på veksthastigheten hos *Senastrum capricornutum*

## Berol Nobel, etter nedbrytning *Senastrum*, areal under vekstkurve

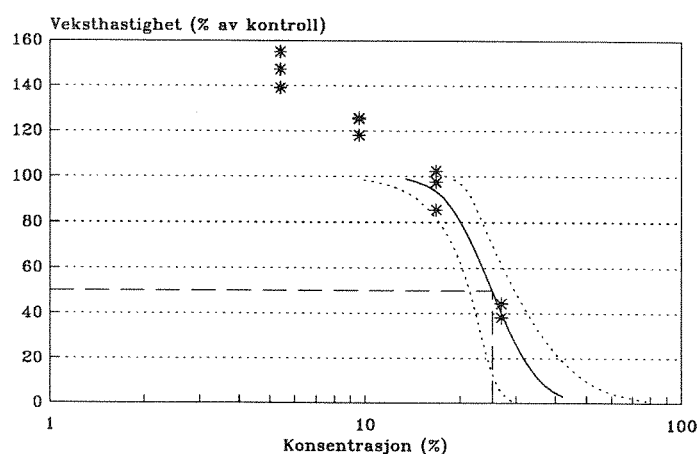


Fig. 3. Effekt av avløpsvann på areal under vekstkurve for *S. capricornutum*

## APPENDIX 7

### Toxicitetstester med marina alger



Undersökning av algtoxiciteten hos avloppsvatten från Stenungssundsområdet - STORK.

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

#### METODER

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

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

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

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

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

#### Testade algarter

Följande stammar av alger testades:

#### CHLOROPHYCEAE

Dunaliella tetriolecta Butcher MBL

#### PRASINOPHYCEAE

Platymonas subcordiformis (Willie) Hazen CCAP 161/19

Tetraselmis sp. CCAP 66/8

#### PRYMNESIOPHYCEAE

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

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

#### DINOPHYCEAE

Prorocentrum minimum Schiller NIVA-2/85

#### RHODOPHYCEAE

Porphyridium cruentum (Ag.) Nägeli UTEX 161

#### BACILLARIOPHYCEAE

Phaeodactylum tricornutum Bohlin UTEX 642

MBL = Marinbiologiskt Laboratorie, Helsingör

CCAP = The Culture Collection of Algae and Protozoa, Cambridge

NIVA = Norsk Institutt for vannforskning, Oslo

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

#### RESULTAT

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

**REFERENSER**

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

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



Tabell 1

5-dagars avläsning ECO (%)		
	Berol	åldrat *
	Färskt	
Dunaliella bioculata	20	5
Platymonas subcordiformis	0.62	10
Tetraselmis sp.	2.5	10
Emiliana huxleyi	0.62	20
Prorocentrum minimum	-	-
Porphyridium cruentum	2.5	2.5
Phaeodactylum tricornutum	2.5	10
Hymenomonas carterae	0.62	5
geom.medel	1.851	7.430
range	0.62-20	2.5-20
5-dagars avläsning EC100		
	Berol	åldrat
	Färskt	
Dunaliella bioculata	40	>
Platymonas subcordiformis	>	>
Tetraselmis sp.	40	>
Emiliana huxleyi	>	40
Prorocentrum minimum	-	-
Porphyridium cruentum	10	40
Phaeodactylum tricornutum	10	>
Hymenomonas carterae	>	40
geom.medel	36.229	59.440
range	10->	40->
12-dagars avläsning ECO		
	Berol	åldrat
	Färskt	
Dunaliella bioculata	20	20
Platymonas subcordiformis	>	5
Tetraselmis sp.	2.5	10
Emiliana huxleyi	1.25	20
Prorocentrum minimum	1.25	5
Porphyridium cruentum	0.62	2.5
Phaeodactylum tricornutum	2.5	5
Hymenomonas carterae	5	5
geom.medel	3.532	7.071
range	0.62->	2.5-20
12-dagars avläsning EC100		
	Berol	åldrat
	Färskt	
Dunaliella bioculata	>	>
Platymonas subcordiformis	>	>
Tetraselmis sp.	>	>
Emiliana huxleyi	>	40
Prorocentrum minimum	10	10
Porphyridium cruentum	>	>
Phaeodactylum tricornutum	10	>
Hymenomonas carterae	>	40
geom.medel	47.568	51.874
range	10->	10->

\* OBS. Koncentrationerna av åldrat vatten är inte korrigerade för den utspädning som gjordes vid nedbrytbarhetstesten (30%). De angivna koncentrationerna skall alltså multipliceras med 0.3 för att representera det ursprungliga avloppsvattnet.

## APPENDIX 8

Akutt toksisitetest, *Nitocra spinipes*

**TESTRAPPORT****TOKSISITETSTEST MED NITOCRA SPINIPES**

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

**TESTSTOFF:** BEROL Stenungsund. Avløpsvann

**TESTORGANISMENS OPPRINNELSE:** Stamme fra VKI Danmark

**FØRINGSBETINGELSER:** Dyrket i henhold til forslag til Dansk Standard

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

Antall enheter: 5 pr. konsentrasjon. Antall individ pr. kons.: 5-6.

Testtemperatur: 20 ± 0,5 °C    pH: 7,8 - 7,9    Oksygen metn.% = > 93

Testkonsentrasjoner: 1.0, 1.8, 3.2, 5.6, 10 og 18 %

Testperiode: 02.07 -06.07.1990

Kontrollstoff: Kaliumdikromat, 96 t  $EC_{50} = 48,0$  mg/L

**RESULTATER:**

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

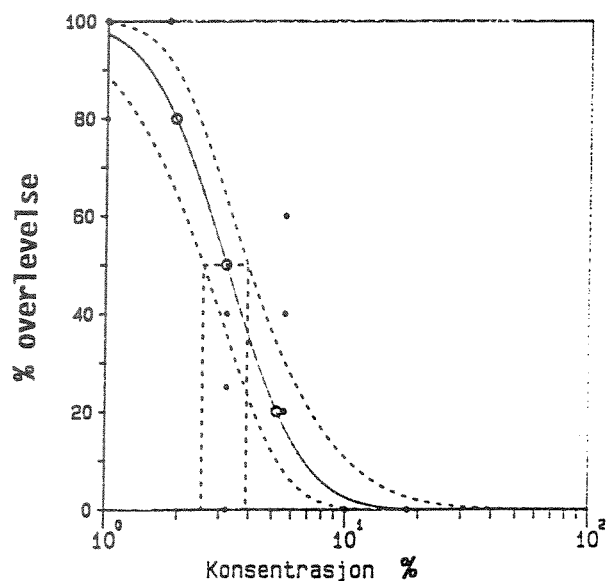
96 timers eksponering: LC-verdier med 95 % konfidensintervall

Verdier Avl.vann %	95 % konfidens- intervall
LC <sub>50</sub> 3,2	2,5 - 3,9
LC <sub>20</sub> 1,9	
LC <sub>80</sub> 5,2	

**Kommentarer:**

Normal dose-respons kurve, med akutt respons over et smalt konsentrasjonsområde.

Dose-respons diagram:    PROBIT



---

## TESTRAPPORT

### TOKSISITETSTEST MED NITOCRA SPINIPES

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

---

TESTSTOFF: BEROL Stenungsund. Avløpsvann. Etter bionedbrytning  $BOD_{35}$ .

TESTORGANISMENS OPPRINNELSE: Stamme fra VKI Danmark

FØRINGSBETINGELSER: Dyrket i henhold til forslag til Dansk Standard

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

Antall enheter: 5 pr. konsentrasjon. Antall individ pr. kons.: 5-6.

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

Testkonsentrasjoner: Konsentrert testprøve (30% avl.a.), og 56 % testprøve.  
Testperiode: 02.08 - 06.08.1990

---

Kontrollstoff: Kaliumdikromat, 96 t  $EC_{50} = 29,0$  mg/L

---

#### RESULTATER:

% dødlighet (immobilitet) i kontrollene: 96t = 0  
96 timers eksponering: LC-verdier med 95 % konfidensintervall

Dose-respons diagram:

Kan ikke opptegnes

#### Kommentarer:

Ingen dødlighet ble observert etter 96 timer eksponering.  
(30 % avløpsvann etter  $BOD_{35}$ )



## APPENDIX 9

### Reproduksjonstest, *Nitocra spinipes*

**TESTRAPPORT****REPRODUKSJONSTEST MED NITOCRA SPINIPES**

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

**TESTSTOFF:** BEROL Stenungsund. Avløpsvann

**TESTORGANISMENS OPPRINNELSE:** Stamme fra VKI Danmark

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

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

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

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

Testkonsentrasjoner: 0.56, 1.0 og 1.8 %

Testperiode: 03.08 -17.08.1990

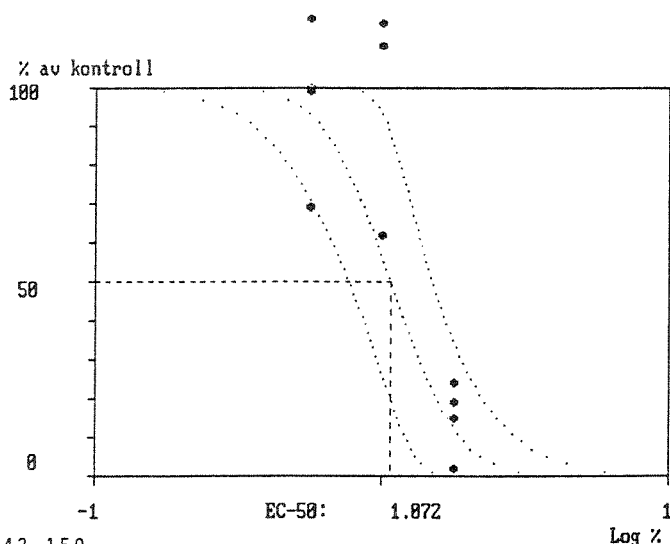
**RESULTATER:**

Kons.	Antall Glass	Foreldre		Antall avkom			Copepod. Nauplier	
		Individ	Lev. 14 d	Totalt	Snitt/gl	SD	snitt/glass	
Kontroll	4	5	18	317	79	18	22	57
0.56 %	4	5	17	416	104	19	26	78
1.0 %	4	5	18	496	124	41	34	90
1.8 %	4	5	9	64	16	9	3	13

EC<sub>50</sub>-verdi = 1 % 95 % konf. int. 0.8 - 1.5 % avløpsvann.

**Kommentarer:**

Relativ stor variasjon i avkom fra individ i de enkelte testglass, spesielt ved 1 % testkonsentrasjon. Relativt lav utviklingsgrad av copepoditter ved denne testserie, også i kontrollen.

**Dose-respons diagram:****Referanse:**

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

**TESTRAPPORT****REPRODUKSJONSTEST MED NITOCRA SPINIPES**

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

**TESTSTOFF:** BEROL Stenungsund. Avløpsvann, Etter nedbrytning.

**TESTORGANISMENS OPPRINNELSE:** Stamme fra VKI Danmark

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

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

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

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

Testkonsentrasjoner: 5.4, 9.6 og 16.8 % avløpsvann.

Testperiode: 18.09. -1.10.1990

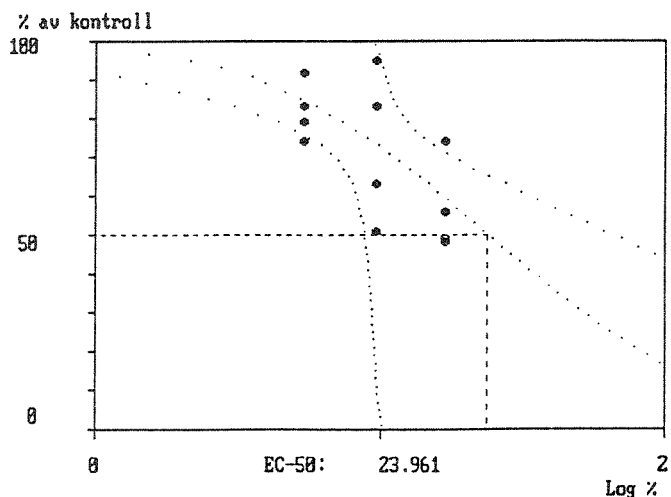
**RESULTATER:**

Kons.	Antall Glass	Foreldre		Antall avkom			Copepod. Nauplier	
		Individ	Lev. 14 d	Totalt	Snitt/gl	SD	snitt/glass	
Kontroll	4	5	18	901	225	34	112	113
5.4 %	4	5	20	738	185	15	97	88
9.6 %	4	5	20	658	165	38	64	101
16.8 %	4	5	20	511	128	24	42	86

EC<sub>50</sub>-verdi = 24 % 95 % konf. int. 9 - 65 % avløpsvann.

**Kommentarer:**

Ufortynnet testløsning etter nedbrytning gir ikke tilstrekkelig effekt til at god dose/responskurve kan beregnes (ekstrapolering). Utviklingen fra nauplier til copepoditter er tydelig påvirket ved 16.8 %.

**Dose-respons diagram:****Referanse:**

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

## APPENDIX 10

### Akut toxicitet, Storspigg

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

EKOTOXIKOLOGISKA GRUPPEN  
KRISTINEBERGS MARINBIOLOGISKA STATION  
450 34 FISKEBÄCKSKIL

## SAMMANFATTNING

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

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

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

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

Undersökta avloppsvatten

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

Följande data uppmättes:

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

### Försöksdjur

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

### Försöksbetingelser

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

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

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

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

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

Prövade koncentrationer var:

Berol:	0.1, 1, 10 och 100 %
Neste:	0.1, 1, 10 och 100 %
Neste neäbr.:	25, 50 och 100 %

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

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

### RESULTAT

BEROL NOBEL AB

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

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

NESTE OXO AB

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

För det nedbrutna vattnet blev 48h LC50 värdet 58% (fig.2) på 3 procent avloppsvatten. En test av detta vatten utfördes. Undersökningen har utförts vid Kristinebergs marinbiologiska station under september månad 1990 av Esbjörn Telemo och Åke Granmo.

För Neste Oxos AB erhöles ett 48h LC50 värde på 48 procent avloppsvatteninblandning. Det nedbrutna vattnet gav ett motsvarande LC50 värde på 58%.

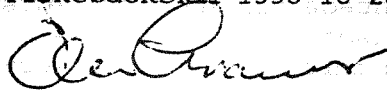
#### LITTERATUR

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

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

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

Fiskebäckskil 1990-10-23



Åke Granmo



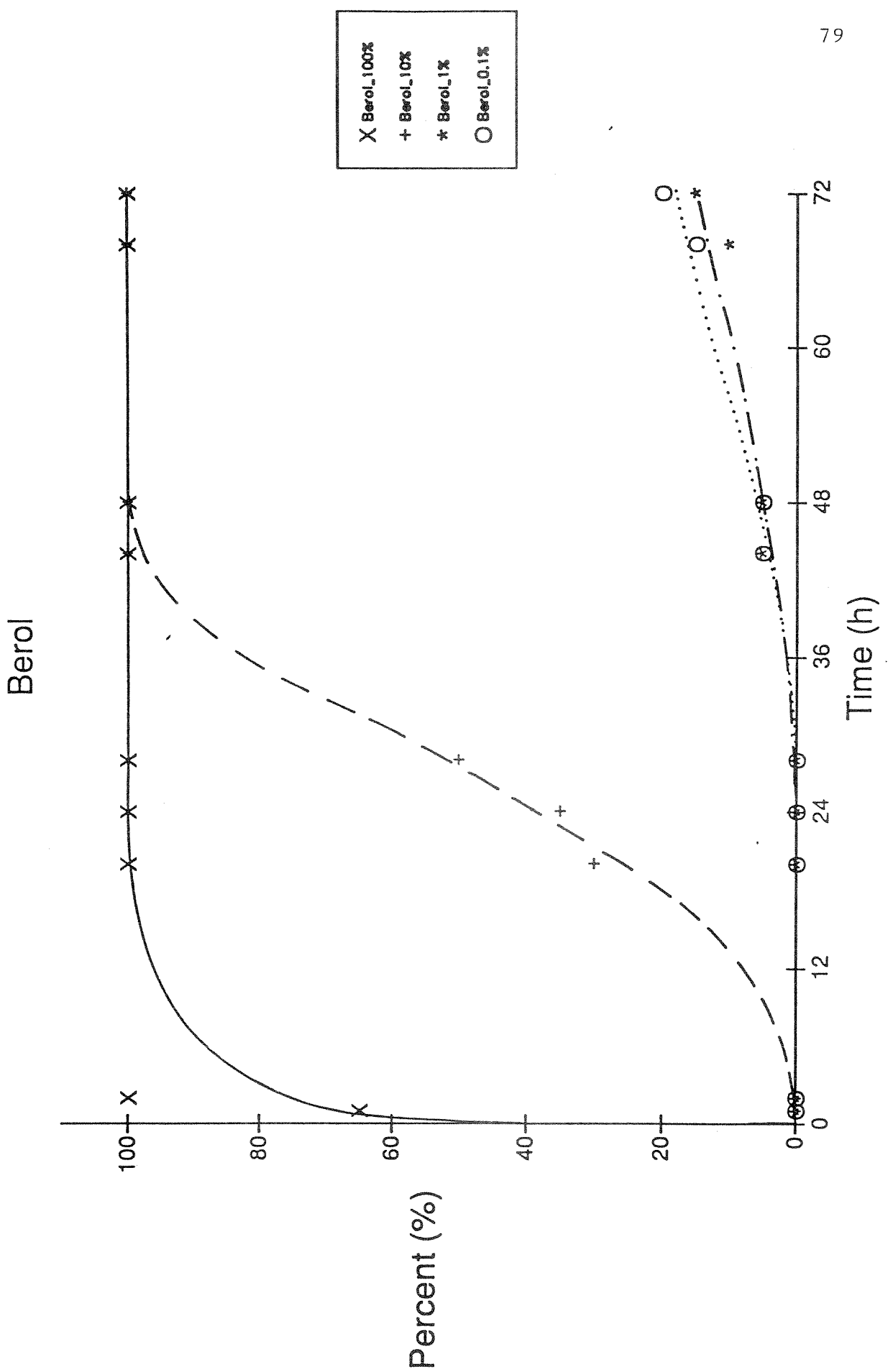


Fig. 1. Kumulativ dödlighet hos storspigg vid exponering för avloppsvatten från Berol Nobel AB.

Neste / Neste degraded

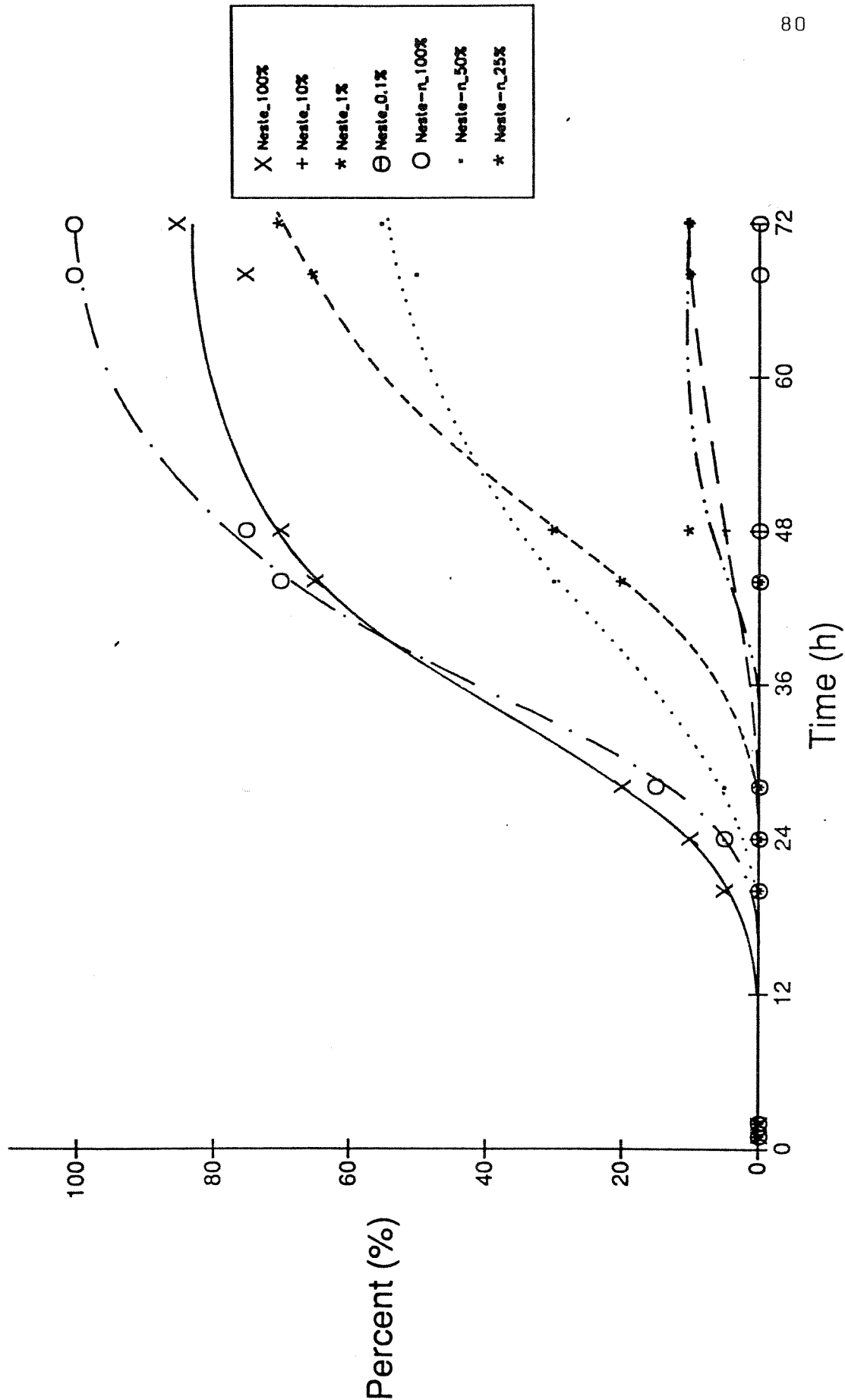


Fig. 2. Kumulativ dödlighet hos storspigg vid exponering för avloppsvatten från Neste Oxo AB. "Neste-n" i diagrammet betecknar avloppsvatten som genomgått nedbrytbarhetstest.

## APPENDIX 11

### Ames test

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

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

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

## RESULTATER.

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

Vedlegg

#### OPPARBEIDING AV VANNPRØVER TIL AMES TEST

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

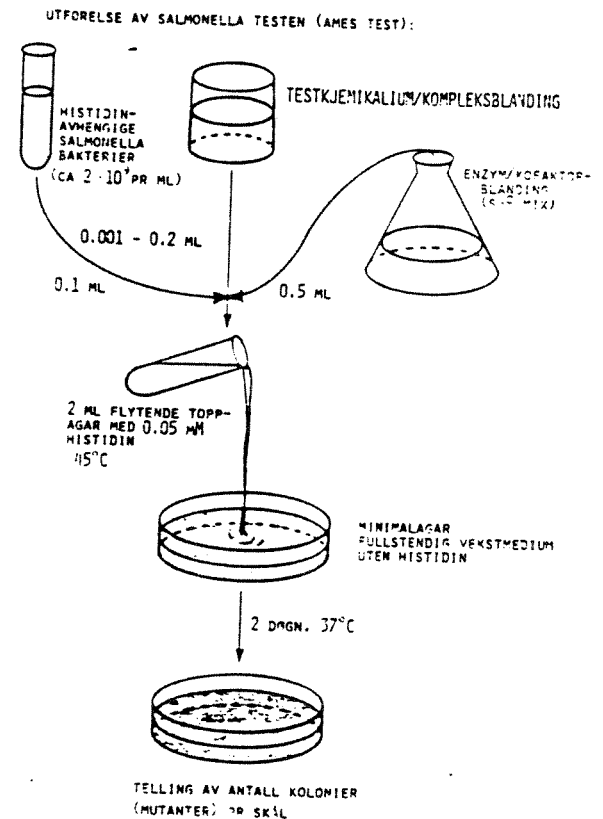
Lit.: Proceedings of the technical Association of the Pulp and Paper Industri 1982 s.382.

## HVA ER AMES' TEST?

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

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

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



## HVORDAN TESTES PRØVER I PRAKSIS?

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

Rent eksperimentelt gjøres følgende:

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

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

## Vedlegg

## BEROL NOBEL, STENUNGSUND

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

Prøve	Vol µl	Bakteristamme Ta98-S9		
		forsøk 1	forsøk 2	forsøk 3
Før nedbr.	5		23	
	10		22	
	20	13	22	20
	50	16		tox
	1 00			tox
Etter nedbr.	5		23	
	10		29	
	20	22	24	21
	50	17		20
	1 00			13
Kontr. 0,2µg NP		20	29	18
		1800	1700	2000

## Vedlegg

## BEROL NOBEL, STENUNGSUND

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

Prøve	Vol µl	Bakteriestamme Ta98+S9		
		forsøk 1	forsøk 2	forsøk 3
Før nedbr.	5		23	
	10		22	
	20	26	30	17
	50	20		tox
	1 00			tox
Etter nedbr.	5		27	
	10		28	
	20	17	29	19
	50	17		22
	1 00			12
Kontr. 5µg BaP		21	27	23
		225	250	360



## Vedlegg

## BEROL NOBEL, STENUNGSUND

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

Prøve	Vol µl	Bakteristamme Ta100-S9		
		forsøk 1	forsøk 2	forsøk 3
Før nedbr.	5		124	
	10		110	73
	20	81	tox	tox
	50	42		tox
Etter nedbr.	5		122	
	10		124	119
	20	117	129	
	50	100		
Kontr. 2µg NP		115	120	110
		2000	1500	1600

## Vedlegg

## BEROL NOBEL, STENUNGSUND

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

Prøve	Vol µl	Bakteristamme Ta100+S9		
		forsøk 1	forsøk 2	forsøk 3
Før nedbr.	5		133	
	10		105	79
	20	116		tox
	50	78		tox
Etter nedbr.	5		122	
	10		136	
	20		127	114
	50	106		
Kontr. 5µg BaP		110	125	114
		1200	1100	1100

## APPENDIX 12

### Nedbrytbarhetstester

**TESTRAPPORT****NEDBRYTBARHETSTEST: REDUKSJON I LØST ORGANISK KARBON OVER 35 DØGN**

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

TESTSTOFF: BEROL Stenungsund. Avløpsvann,

TESTBETINGELSER

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

TEST-MEDIUM: Avløpsvann tilsatt saltløsninger og destillert vann til en fortyninggrad på 1:3,33 (30 %).

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

INKUBASJON: Temperatur;  $20 \pm 1.0$  °C . Varighet: 35 dager.

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

Dato for test-start: 18.06. 1990

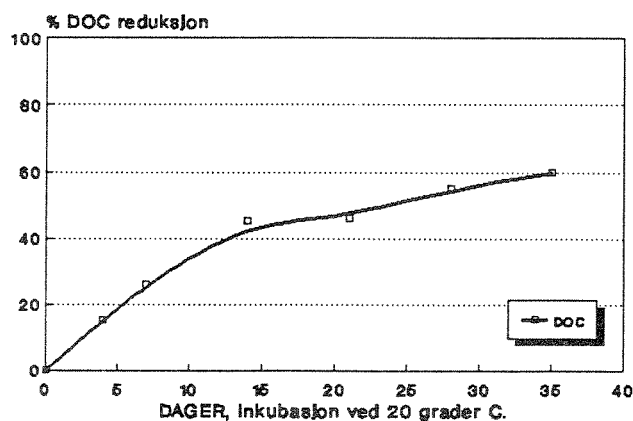
Løst organisk karbon DOC

BEROL-Sten.	Konsentrasjon etter x dager ( mg/l C )						
	0	4	7	14	21	28	35
Avl.vann 30% i dest.v.+ salter	42.8 41.8	35.9	31.3	23.3	22.7	18.9	17,1

## Evaluering av DOC-data

Døgn fra start	% DOC reduksjon etter x dager					
	4	7	14	21	28	35
DOC-reduksjon	15	26	45	46	55	60

Diagram:



## TESTRAPPORT

### BIOOKSIDASJON AV LETT NEDBRYTBART ORGANISK STOFF

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

TESTSTOFF: BEROL, Stenungsund. Avløpsvann

TESTAPPARATUR: Manometrisk respirometer, WtW 2001

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

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

INKUBASJON: Temperatur:  $20 \pm 10$  C . Varighet: 28 dager.  
pH: Start 7,6 Slutt: 8,5

Testperiode: 04.07 -01.08.1990

Testkonsentrasjon: 1:4 fortyning.

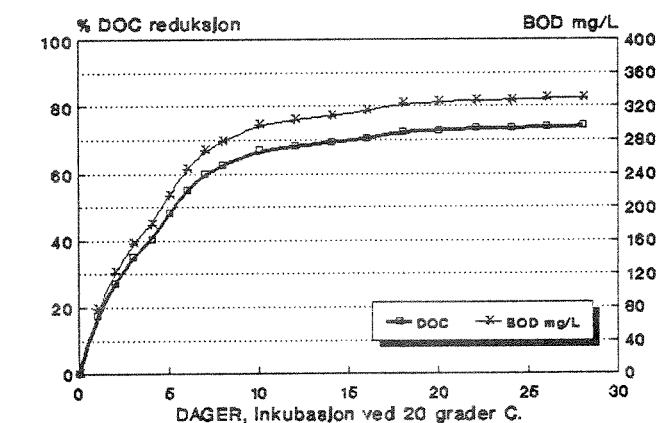
39,5 mg/L DOC

TOC-verdiene på MF-filtrerte prøver ved start (dag<sub>0</sub>) og etter 28 dogn bionedbrytning er ikke korrigert for DOC<sub>0</sub> og DOC<sub>28</sub> i blank-prøve (inoculum).

RESULTATER: BOD<sub>28</sub> = 330 mg/L DOC-reduksjon = 74 %

	Analyser, mg/L			% DOC-reduksjon
	BOD <sub>28</sub>	DOC <sub>0</sub>	DOC <sub>28</sub>	
Testprøve (1:4)	82,5	39,5	10,2	74 %

BOD-utvikling:



BOD, middelverdi av duplikater

Kommentarer:

Biooksidasjon viste en rask utvikling, som begynte å stagnere etter 10 dogn inkubasjon. Ca 90 % av BOD var omsatt innenfor dette tidsrom.

BOD<sub>7</sub> ble målt til 267 mg/L

Testansvarlig: H. Efraimsen

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

**TESTRAPPORT****NEDBRYTBARHETSTEST: REDUKSJON I LØST ORGANISK KARBON OVER 35 DØGN**

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

**TESTSTOFF:** BEROL Stenungsund. Avløpsvann, 30 % i sjøvann

**TESTBETINGELSER**

**APPARATUR:** 10 L beholder (glassflaske), med magnetrørverk.

**TEST-MEDIUM:** Sjøvann (fra 40 m dyp utenfor Solbergstrand forsøksstasjon) lagret i 6 døgn ved 4 °C før bruk. Dekantert sjøvann ble blandet med avløpsvann og tilsatt 1 ml/L av løsn. a,b,c,d. 5 mg/L NH<sub>4</sub>Cl ble tilsatt.

**INOKULUM:** Mikroorganismer fra luftet kom. avløpsvann (NS 4749) og effluent fra Husmann enhet (OECD) lab. anlegg.  
Kimtall = 4 x 10<sup>5</sup> /ml. Tilsetning, 0,5 ml/L  
Sjøvannets kimtall= 750/ml

**INKUBASJON:** Temperatur: 4-5 °C . Varighet: 35 dager.

Dato for test-start: 27.06. 1990

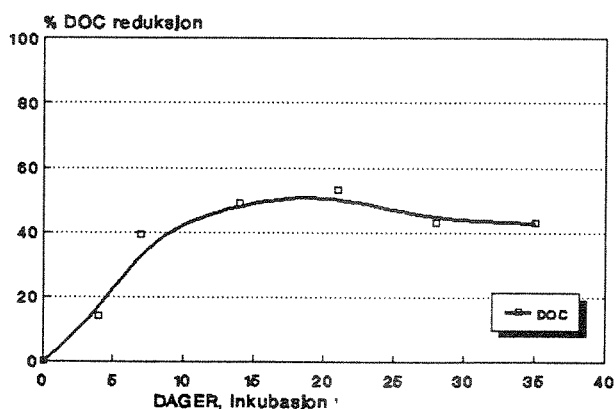
**Løst organisk karbon DOC**

BEROL-Sten.	Konsentrasjon etter x dager ( mg/l C )						
	0	4	7	14	21	28	35
Avl.vann 30% i sjøvann+ salter	51.0	44.0	31.3	26.0	24.0	29.0	29,0

**Evaluering av DOC-data**

Døgn fra start	% DOC reduksjon etter x dager					
	4	7	14	21	28	35
DOC-reduksjon	14	39	49	53	43	43

Diagram:



**TESTRAPPORT****BIOOKSIDASJON AV LETT NEDBRYTBART ORGANISK STOFF**

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

**TESTSTOFF:** Avløpsvann, BEROL Stenungsund.

**TESTAPPARATUR:** Manometrisk respirometer, WtW 2001

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

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

**INKUBASJON:** Temperatur:  $4 \pm 1^{\circ} \text{C}$ . Varighet: 28 dager.  
pH: Start 7,6 Slutt: 7,6

Testperiode: 04.07 -01.08.1990

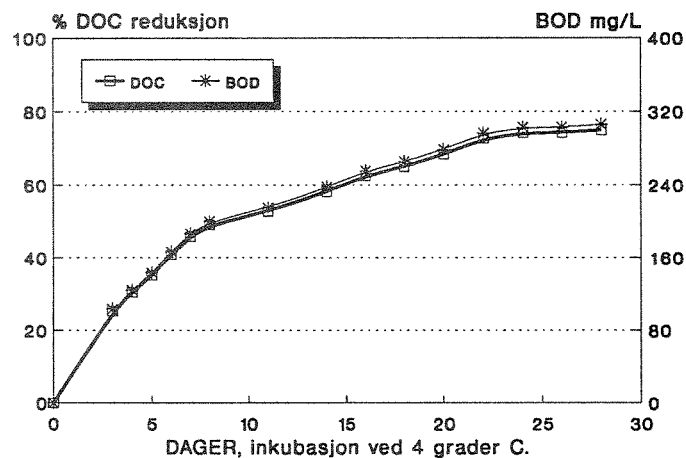
Testkonsentrasjon: 15 % avløpsvann i sjøvann 7,7 mg/L DOC

TOC-verdiene på MF-filtrerte prøver ved start (dag<sub>0</sub>) og etter 28 døgn bio-nedbrytning er ikke korrigert for DOC<sub>0</sub> og DOC<sub>28</sub> i blank-prøve (inoculum).

**RESULTATER:** BOD<sub>28</sub> = 306 mg/L DOC-reduksjon = 16 %

	Analyser, mg/L			% DOC-reduksjon
	BOD <sub>28</sub>	DOC <sub>0</sub>	DOC <sub>28</sub>	
Testprøve (15 %)	46	25,5	6,5	75 %

BOD-utvikling:



BOD, middelverdi av duplikater

**Kommentarer:** Biooksidasjon viste en rask utvikling til etter 8 døgn, for så å avta noe. Etter 22-24 døgn stagnerte omsetningen. BOD<sub>7</sub> var 187 mg, som representerer 61 % av BOD<sub>28</sub>.

Testansvarlig: H. Efraimsen

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

## APPENDIX 13

### Metoder



## **Metodebeskrivelser**

### **TOC (Totalt organisk karbon)**

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

### **DOC (Løst organisk karbon)**

Analysert som TOC etter filtrering gjennom 0.45 mm membranfilter.

### **Øvrige metoder**

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

Norsk institutt for vannforskning  NIVA

Postboks 69, Korsvoll  
0808 Oslo 8