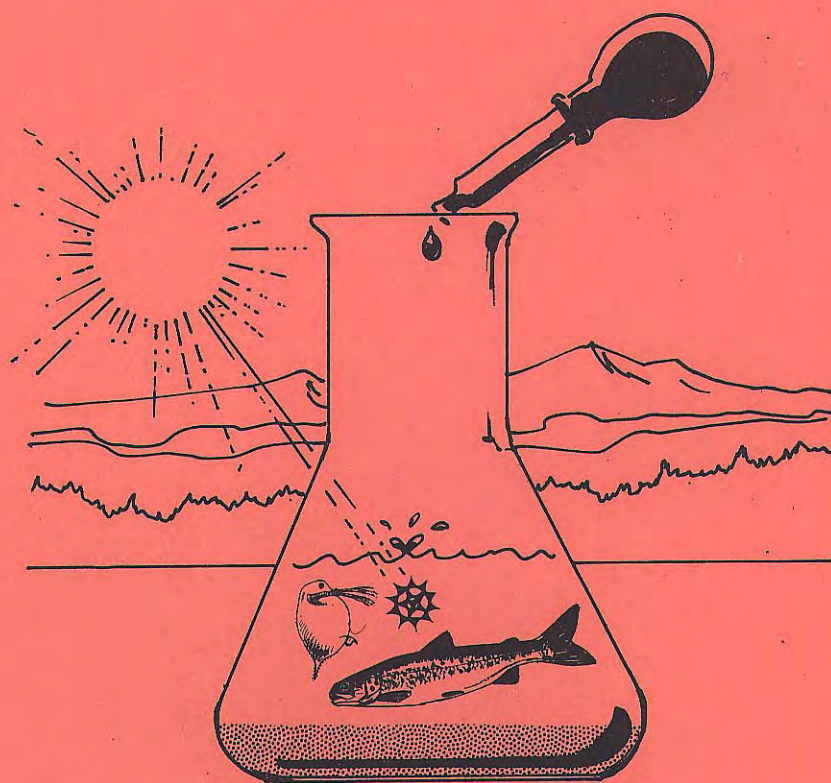


O-90114

KARAKTERISERING AV AVLOPPSVATTEN FRÅN

Berol Nobel AB

Örnsköldsvik



NIVA – RAPPORT

Norsk institutt for vannforskning



NIVA

Hovedkontor
Postboks 69, Korsvoll
0808 Oslo 8
Telefon (02) 23 52 80
Telefax (02) 39 41 89

Sørlandsavdelingen
Televeien 1
4890 Grimstad
Telefon (041) 43 033
Telefax (041) 43 033

Østlandsavdelingen
Rute 866
2312 Ottestad
Telefon (065) 76 752
Telefax (065) 78 402

Vestlandsavdelingen
Breiviken 5
5035 Bergen-Sandviken
Telefon (05) 95 17 00
Telefax (05) 25 78 90

Prosjektnr.: 0-90114
Undernummer:
Løpenummer: 2519
Begrenset distribusjon:

Rapportens tittel: Karakterisering av avløpsvatten från Bero1 Nobel AB, Division Kolloidkemi, Örnsköldsvik	Dato: 28.12.90
	Prosjektnummer: 0-90114
Forfatter (e): Torsten Källqvist	Faggruppe: Analyse
	Geografisk område: Sverige
	Antall sider (inkl. bilag): 59

Oppdragsgiver: Bero1 Nobel	Oppdragsg. ref. (evt. NTFN-nr.): K. Nytorp
--------------------------------------	--

Ekstrakt: En karakterisering av utgående avløpsvann før rensing fra Bero1 Nobel AB i Örnsköldsvik, Sverige er utført etter direktiver fra Statens Naturvårdsverk. Programmet omfattet kjemisk og biologisk karakterisering (toxicitet og nedbrytbarhet) av prøver tatt over en uke, 11-17/6 1990. Avløpsvannet hadde et høyt innhold av organisk karbon (15-20 g/l). Av dette utgjorde mineralolje-hydrokarboner 350 mg/l. Mengden AOX var 1.5 mg/l, og potensielt bioakkumulerbart materiale 15 mg/l. 87% av DOC ble omsatt i løpet av 5 uker. Gifteffekter på akvatiske organismer ble påvist ned til ca. 1% konsentrasjon.
--

4 emneord, norske:

1. Industriavløpsvann
2. Kjemisk industri
3. Økotoksikologi
4. Biologisk nedbrytbarhet

4 emneord, engelske:

1. Industrial waste water
2. Chemical industry
3. Ecotoxicology
4. Biological degradation

Prosjektleder:

Torsten Källqvist

For administrasjonen:

Rainer J. Schenk

ISBN 82-577-1832-7

Norsk Institutt for Vannforskning

O-90114

KARAKTERISERING AV AVLOPPSVATTEN

FRÅN

BEROL NOBEL AB, DIVISION KOLLOIDKEMI

ÖRNSKÖLDSVIK

Projektleidare: Torsten Källqvist, NIVA

Medarbetare:

NIVA

Harry Efraimsen

Randi Romstad

Åse Bakketun

Magne Grande

SI

Berit Holestøl

FÖRORD

Som ett led i kartläggningen av utsläpp från kemisk industri, har Statens naturvårdsverk anmodat Berol Nobel AB, Division Kolloidkemi i Örnköldsvik 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. Vissa analyser av dygnsprover utfördes lokalt vid Berol Nobel. Övriga tester och analyser har utförts vid NIVA och SI.

Oslo december 1990

Torsten Källqvist

INNEHÅLLSFÖRTECKNING

	Sida
1. Material och metoder	4
1.1. Beskrivning av anläggning	4
1.2. Provtagning	4
1.3. Provbehandling	4
1.4. Test-och analysprogram	5
2. Resultat	7
2.1. Variationsstudie	7
2.2. Blandprov	8
2.2.1. Kemisk karakterisering	8
2.2.2. Bioackumuleringspotential	9
2.2.3. Toxicitet	9
2.2.4. Nedbrytbarhet	10
2.2.5. Kemisk karakterisering efter nedbrytning	11
2.2.6. Toxicitet efter nedbrytning	12
3. Kommentarer	12
APPENDIX 1.	14
APPENDIX 2.	20
APPENDIX 3.	31
APPENDIX 4.	33
APPENDIX 5.	40
APPENDIX 6.	49
APPENDIX 7.	51
APPENDIX 8.	54
APPENDIX 9.	57

1. MATERIAL OCH METODER

1.1. Beskrivning av anläggning

Berol Nobel Stenungsund AB, Division Kolloidkemi, tillverkar etylhydroxietylcellulosa (EHEC) som marknadsförs under varunamnet Bermocoll. Huvudsakliga användningsområden är för färgindustrin som dispergeringsmedel i vattenbaserade färger och som vattenkvarhållningsmedel i bruk, putser och spackel för byggnadsindustrin.

EHEC syntetiseras genom att cellulosa aktiveras med natriumhydroxid varefter företering med etylenoxid och etylklorid kan utföras. Råprodukten upparbetas genom tvättning, torkning och malning.

Vid syntes av EHEC reagerar en del av etylenkloriden och etylenoxiden med vattnet från natriumhydroxidlösningen till glykoler och etanol. I efterföljande tvättsteg överförs biprodukterna till tvättvattnet. Mängden avloppsvatten uppgår till ca. 200 m³/dygn. COD-halten är 50-90 g/l.

Allt processvatten från anläggningen samlas i bufferttankar (volym 120 m³ för utjämning och kontroll före behandling i MoDoCells anläggning för biologisk rening. Processvattnet från Neste Oxo, Sekab och Berol Nobel går i en gemensam ledning till bioreningsanläggningen.

De olika avloppsvattnen från MoDo, Berol, Sekab och Neste Oxo samlas i en pumpbuffert där vattnet pH-justeras med kalk och erforderliga närsalter i form av kväve och fosfor tillsätts. Vattnet pumpas till anaeroba tankar där en omblandning sker genom gas och vätske-cirkulation.

Efter slamseparering rinner det renade avloppsvattnet till en luftningstank och därifrån ut i Moälven, som i sin tur mynnar ut i Örnköldsviksfjärden.

1.2. Provtagning

7 dygnsprov togs ut under en vecka från 11-18/6 1990. Proverna togs med en automatisk provtagare från delflödet från Berol Nobel innan rening.

1.3. Provbehandling

Dygnsproverna överfördes till flaskor/kannor av polyeten som förvarades frysta. Efter avslutad provtagning transporterades de frysta proverna till testlaboratorierna i Oslo, dit de ankom med frystransport 22.6. 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.

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

Tabell 1. Dygnsflöde av avloppsvatten vid provtagningspunkten, blandningsförhållande av dygnsprover i blandprov, samt produktionen av EHEC i perioden 11-17/6 1990.

Datum:	11/6	12/6	13/6	14/6	15/6	16/6	17/6
Flöde m ³ /d	102	200	161	195	216	108	104
Blandningsförhållande %	9.4	18.4	14.8	18	19.9	9.9	9.6
Produktion av EHEC, ton	10.5	21	19.3	16.7	16.9	16	17

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 innehållet av totalt organisk kol (TOC), ledningsförmåga (konduktivitet) och pH-värde.

Den kemiska karakteriseringen av veckoblandprovet omfattade följande parametrar:

Kemisk syreförbrukning	COD	NS 4748 (SS 028142)
Biokemisk syreförbrukning	BOD7	NS 4749 (SS 028143 E)
Totalt organiskt kol	TOC	Standard methods 505 (Se app. 9)
Löst organiskt kol	DOC	Standard methods 505 (Se app. 9).
Mineralolja		Se appendix 1
Adsorberbart organiskt halogen	AOX	Se appendix 9
Extraherbart organiskt halogen	EOX	Se appendix 9
Organiskt kväve	N	NS 4743 - 4745 (SIS 028131-028133)
Organiskt fosfor	P	NS 4724, 4725 (SIS 028126-028127)
pH		NS 4720 (SS 028122)
Ledningsförmåga		NS4721 (SS 028123)
Suspenderat material		NS 4733 (SS 028112)

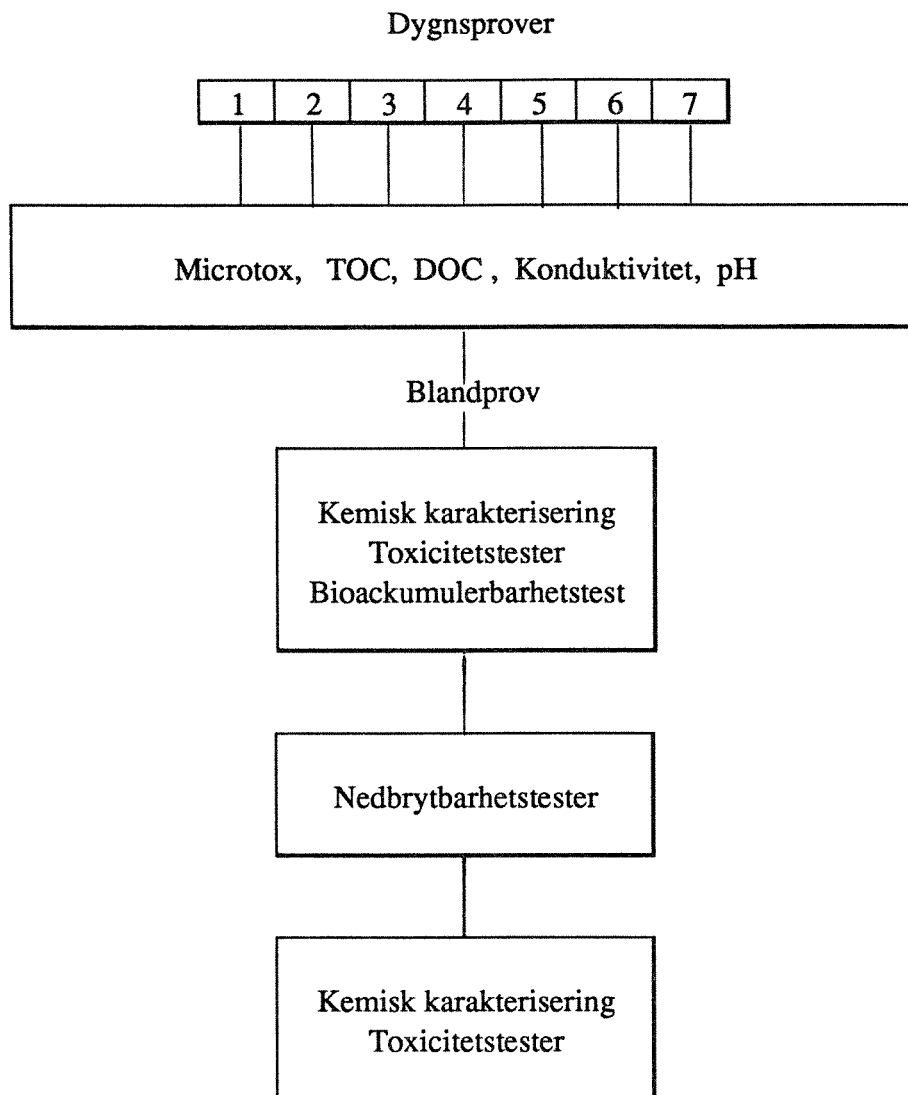


Fig. 1. Skiss av program för karakteriseringen.

Avloppsvattnets innehåll av potentiellt bioackumulerbara organiska ämnen undersöktes med hjälp av en tunnskikt-kromatografisk metod genom fraktionering och kvantificering av lipofila komponenter. (Se appendix 2).

Avloppsvattnets giftverkan undersöktes med 5 toxicitetstester:

Organism	parameter	metod
Heterotrofa mikroorganismer (aktivt slam)	EC ₅₀ hämning av syreförbrukning	ISO 8192
Photobacterium phosphoreum	EC ₅₀ hämning av ljusprod.	Microtox
Selenastrum capricornutum	EC ₅₀ hämning av växt	ISO DIS 8692
Nitocra spinipes	LC ₅₀	DS -F 88/225
Sebrafisk	LC ₅₀	NS4757, SS 028193

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 i en 100 l polyeten-behållare efter spädning av avloppsvattnet till 2% koncentration för att erhålla ett passande DOC-nivå för testen. Testtemperaturen var 20 °C .

Parallellt med denna nedbrytbarhetstest gjordes en test 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.

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

2. RESULTAT

2.1. Variationsstudie

Resultaten av analyserna av dygnsproverna redovisas i tabell 2.

Tabell 2. Ledningsförmåga, pH-värde, löst organiskt kol och EC₅₀ för Microtox i dygnsprover.

Datum:		11/6	12/6	13/6	14/6	15/6	16/6	17/6
Ledningsförmåga	mS/m	3800	5750	5200	4900	4970	5010	5350
pH		4.4	4.6	4.2	4.3	4.3	4.1	4.0
TOC	mg/l	8570	14625	18275	18600	17900	15125	19200
Microtox	EC ₅₀ (%)	10	11	6.6	8.0	7.7	7.5	5.4

Analyserna visar att avloppsvattnets innehåll av organiskt kol genomgående är högt. Bortsett från den första dagen ligger alla dygnsvärden mellan ca. 15 og 20 g DOC/l. Microtox-testerna tyder på att toxiciteten är förhållandevis stabil, med EC₅₀-värden mellan 5.4 och 11 %. Det är inget klart samband mellan DOC och gifteffekten på Microtox .

2.2. VECKOBLANDPROV

2.2.1. Kemisk karakterisering

Resultat av de kemiska analyserna av veckoblandprovet redovisas i tabell 3. Avloppsvattnet var surt (pH 4.32) och hade hög ledningsförmåga. Mängden suspenderat material uppgick till 52 mg/l. Innehållet av organiska ämnen var mycket högt, som framgår av de höga värdena på totalt och löst organiskt kol (ca. 19 g/l) och kemisk syreförbrukning (COD, 56 g/l). Förhållandet mellan COD och BOD tyder på att det organiska materialet till stor del är lätt nedbrytbart.

Av den organiska fraktionen utgjorde upolära kolväteföreningar 350 mg/l. Dessa var i kokpunktsområdet 150-340 °C (C₉-C₂₀), men GC-profilen tyder inte på att de härstammar från mineralolja. (Se appendix 1.).

Adsorberbart organiskt bundet halogen (AOX) uppgick till 1.5 mg/l. Den extraherbara fraktionen (EOX) var under detektionsgränsen (0.08 mg/l), men analysen visade spår av EOX.

Innehållet av kväve-och fosforföreningar var lågt i förhållande till kolinnehållet. Organiskt fosfor uppgick till ca. 0.5 mg/l och organiskt kväve till 0.2 mg/l.

Tabell 3. Resultat av kemisk karakterisering av avloppsvatten före och efter 28 dygns nedbrytbarhetstest. Analysresultaten efter nedbrytning har korrigerats för utspädningen vid nedbrytbarhetstesten genom multiplikation med spädningfaktorn (50 ggr.). (i.p. = icke påvisat).

Parameter	enhet	före nedbr.	efter nedbr.	Appendix
COD	mg O/l	56000	10000	
BOD	mg O/l	29000	700	
TOC	mg/l	19360	2760	
DOC	mg/l	18740	2505	
AOX	mg/l	1.5	3.5	
EOX	mg/l	<0.08	i.p.	
Mineralolja-kolväten	mg/l	350	<2.5	App. 1.
tot. N	mg/l	0.6	-	
NO ₃	mg N/l	0.105	-	
NH ₄	mg N/l	0.34	-	
tot. P	mg/l	0.5	-	
PO ₄	mg P/l	0.076	-	
pH		4.32	-	
Ledningsförmåga	mS/m	5070	-	
Suspenderat material	mg/l	51.9	-	

2.2.2. Bioackumuleringspotential

Bioackumulerbarheten undersöktes i ett surt och ett basiskt extrakt av avloppsvattnet. Innehållet av kromatograferbara ämnen i de två extrakten före och efter fraktionering med tunnskiktskromatografi visas i tabell 4. Som potentiellt bioackumulerbara räknas ämnen med fördelningskoefficient oktanol/vatten (P_{ow}) $>10^3$.

Tabell 4. Innehåll av kromatograferbara ämnen (mg/l) i surt och basiskt extrakt av avloppsvatten. 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	Fraktion III
Surt	15.3	2.5	12.1
Basiskt	1.1	i.p.	i.p.

Det sura extraktet hade den högsta koncentrationen av organiska komponenter från avloppsvattnet. Största delen av dessa (12.1 mg/l) återfanns i fraktionen med fördelningskoefficient mellan 10^3 och 10^5 , och resten (2.5 mg/l) i fraktionen med $P_{ow} >10^5$.

2.2.3. Toxicitet

Resultaten av toxicitetstesterna har sammanfattats i tabell 5.

Samtliga tester visade begynnande toxiska effekter av avloppsvattnet i koncentrationer mellan 1 och 10%. LC_{50} -värdena för Sebrafisk och kräftdjuret *Nitocra spinipes* var i området 7-8 %. Testena med Microtox och alger (*Selenastrum capricornutum*), visade något större känslighet. EC_{50} -värdet för hämning av algernas växthastighet var 4.2 %. (Se figur 2.). I testmetoden föreskrivs också beräkning av EC_{50} -värdet för areal under växtkurvan. Denna responsparameter ger normalt lägre EC_{50} -värden än växthastigheten p.g.a. att små skillnader i växthastighet ger stora skillnader i producerad biomassa. EC_{50} för areal under växtkurvan var 1.1 %.

Testerna med Microtox, alger och *Nitocra* utfördes efter neutralisering av avloppsvattnet och är alltså inte ett resultat av avloppsvattnets låga pH-värde. Testen med sebrafisk gjordes dels utan och dels med neutralisering. Neutraliseringen medförde här en minskning av toxiciteten och LC_{50} -värdet ökade från 7 till 23.5 % (Se figur 3.). I det icke neutraliserade vattnet observerades 90% dödlighet efter 4 dygn vid koncentrationen 10%. pH-värdet vid denna koncentration var 4.9. Vid 5% koncentration var dödligheten 10% och pH-värdet 5.3. Det är osäkert om den observerade dödligheten primärt orsakats av lågt pH-värde, eftersom effekten av ren syra-tillsättning på sebrafisk, under för övrigt lika förhållanden, inte har utförts.

Tabell 5. Toxicitet i avloppsvatten före och efter nedbrytbarhetstest. (EC- och LC-värden angivet som % avloppsvatten. Värden efter nedbrytning har korrigerats för utspädningen vid nedbrytbarhetstesten (50 ggr.).

Test	respons	före nedbr.	efter nedbr.	Appendix
Aktiv slam	EC ₅₀ , syrekonsumtion	13.8	-	App. 3
Microtox	EC ₅₀ , ljusproduktion	5.8	>2	App. 4
Selenastrum	EC ₅₀ , växthastighet	4.2	>2	App. 5
Selenastrum	EC ₅₀ , areal under växtkurva	2.5		App. 5
Nitocra spinipes	LC ₅₀ , 96 tim.	8	>2	App. 6
Sebrafisk	LC ₅₀ , 96 tim. (icke neutral.)	7	>2	App. 7
Sebrafisk	LC ₅₀ , 96 tim. (neutraliserat)	23.5	-	App. 7

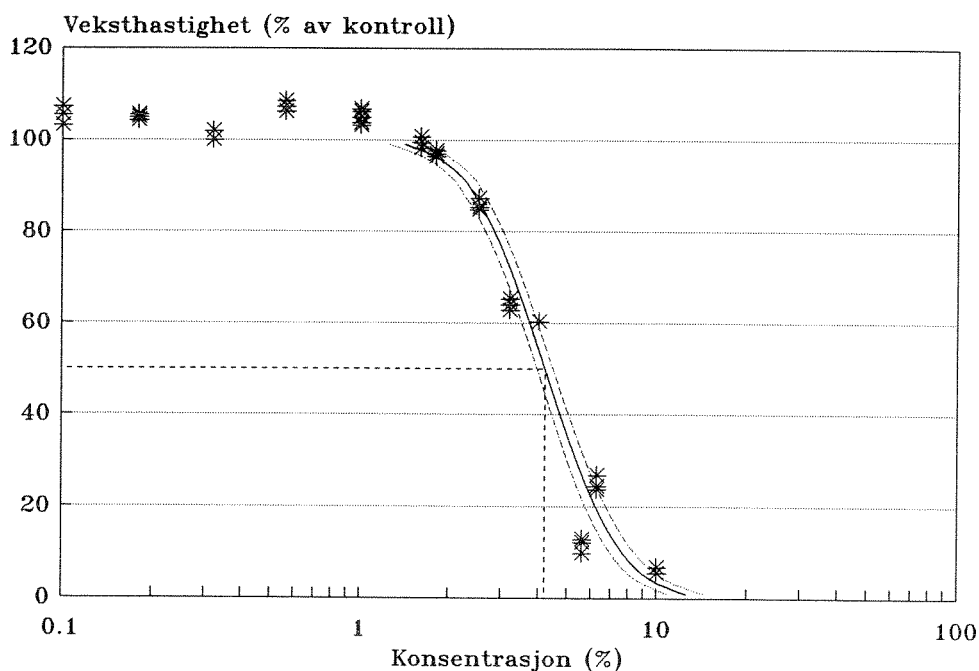


Fig. 2. Effekt av avloppsvatten på växthastigheten hos *Selenastrum capricornutum*. 100% växthastighet = växthastighet i kontrollkulturer. Prickade linjer = 95% konfidensintervall för responskurvan (Probit-analys). Streckad linje anger 50% respons (EC₅₀).

2.2.4. Nedbrytbarhet

Nedbrytbarhetstesterna visade ett ganska jämnt nedbrytningsförlopp under hela perioden testerna varade. Efter fem veckor var 87% av DOC nedbrutet. (Se fig. 4.) Syreförbrukningen uppgick till ca. 20 g/l efter en vecka och 45.6 g/l efter fyra veckor (se fig. 5.).

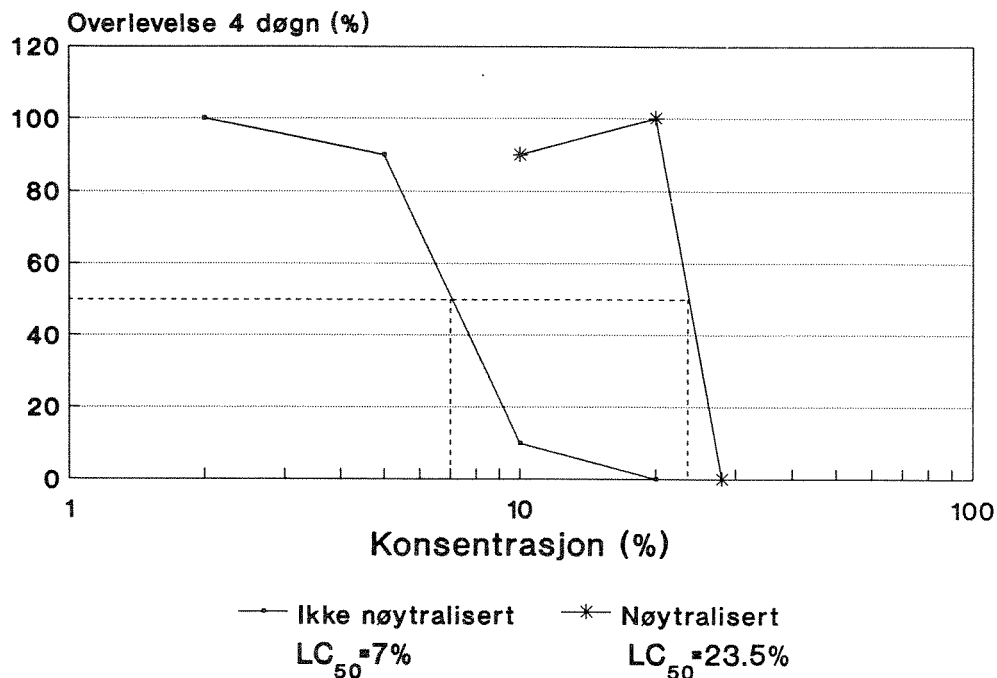


Fig. 3. Effekt av avloppsvatten med og utan pH-neutralisering på overlevnad av sebrafisk. Streckade linjer anger 50% dødlighet (LC_{50}).

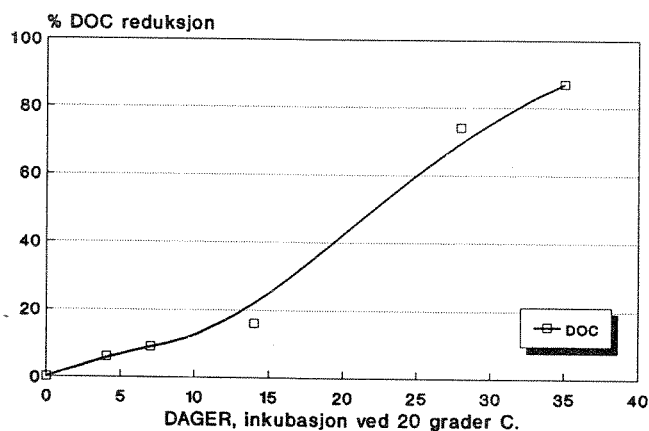


Fig. 4. Koncentrationer av DOC mått ved nedbrytbarhetstest ved 20 °C.

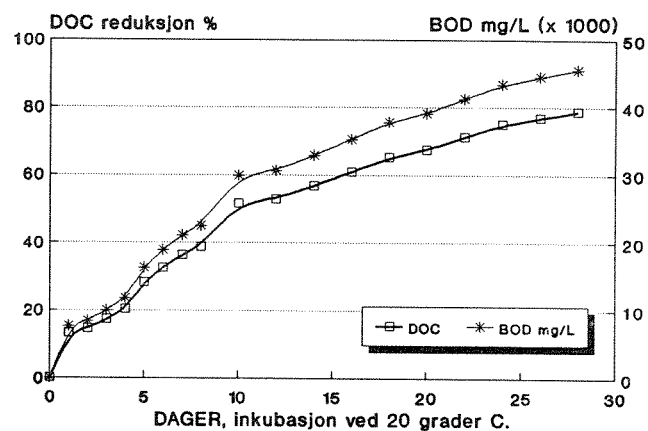


Fig. 5. Syreforbrukning ved nedbrytbarhetstest ved 20°C. Den undre kurvan indikerer DOC-førlopp på basis av syreforbrukning.

2.2.5. Kemisk karakterisering etter nedbrytning

På grunn av det mycket höga innehållat av organiskt kol, måste avloppsvattnet spädas till 2% vid nedbrytbarhetstesten. Det innebär att analyserna och toxicitetstesterna efter

nedbrytning måste utföras på detta utspädda prov. Detta medförde problem för analyser av ämnen som redan i det koncentrerade avloppsvattnet förekom i låga koncentrationer.

Resultaterna av den kemiska karakteriseringen efter nedbrytning redovisas i tabell 3. Värdena är korrigerade för utspädningen vid nedbrytbarhetstesterna och motsvarar alltså halter i koncentrerat avloppsvatten.

Efter fem veckors nedbrytning hade innehållet av organiskt kol reducerats med ca. 90 %. Den kemiska syreförbrukningen visar en något mindre reduktion (82%). Den biologiska syreförbrukningen var som man kan vänta betydligt reducerad, och uppgick till 2% av värdet före nedbrytning.

Analysen av AOX i provet efter nedbrytning visade 0.07 mg/l. När man tar hänsyn till spädningen motsvarar det 3.5 mg/l i koncentrerat avloppsvatten, som är högre än analysen före nedbrytning visade. Detta tyder på att en kontaminering har skett under nedbrytbarhetstesten. EOX kunde inte påvisas efter nedbrytning.

2.2.6. Toxicitet efter nedbrytning

På grund av utspädningen av avloppsvattnet vid nedbrytbarhetstesten (50 ggr.) var koncentrationen lägre än den som gav gifteffekter vid toxicitetstesterna före nedbrytning. Testerna kan därför inte visa om toxiciteten minskat vid nedbrytningen. En eventuell ökning av toxiciteten skulle däremot kunna påvisas.

Resultaten av toxicitetstesterna redovisas i tabell 5. Det blev inte funnet toxiska effekter på Microtox, sebrafisk och *Nitocra* i det utspädda avloppsvattnet efter nedbrytning. EC₅₀ resp. LC₅₀-värden kan därför inte beräknas, men anges som >2% i tabellen.

För algen *Selenastrum capricornutum* registrerades en hämning av växten vid de två högsta testkoncentrationerna, 56 och 90% utspätt avloppsvatten, vilket motsvarar 1.12 resp. 1.8% koncentration av det ursprungliga avloppsvattnet. Det har emellertid konstaterats att den salttillsättning som används vid nedbrytbarhetstesten (bl. a. fosfatbuffer) kan ge växthämning på *Selenastrum* i höga koncentrationer av nedbrytbarhetsmedium även utan tillsats av avloppsvatten. Det är därför sannolikt att gifteffekten som påvisades med *Selenastrum* efter nedbrytning inte beror på substanser som härstammar från avloppsvattnet.

3. KOMMENTARER

Karakteriseringen visar att avloppsvattnets sammansättning är förhållandevis stabil vid normal produktionsvolym av EHEC. Avloppsvattnet är surt och har ett högt innehåll av salter och organiska ämnen. Den organiska fraktionen uppgår till 15-20 g TOC/l, vilket ger en total mängd av ca. 3 tonn kol/dygn.

Av det organiska materialet identifierades 350 mg /l (ca. 2%) som mineraloljekolväten (C₉-C₂₀). Mängden adsorberat organiskt halogen (AOX) uppgick till 1.5 mg/l. Av detta var en mycket liten andel (<0.08 mg/l) extraherbart (EOX). EOX representerar den fettlösliga delen av de halogenerade kolväteföreningarna, som är den i miljösynpunkt mest betänkliga fraktionen.

Mängden potentiellt bioackumulerbara substanser uppmättes till ca. 15 mg/l. Det är en mycket liten andel av den totala mängden organiskt material, men representerar ändå ca. 2.7 kg/dygn. Undersökningen omfattade inte analys av potentiellt bioackumulerbara ämnen efter nedbrytning, så persistensen av denna fraktion är inte känd.

I förhållande till det organiska innehållet var koncentrationerna av näringssalter samt organiskt bundet kväve och fosfor lågt.

Gifteffekter på akvatiska organismer påvisades ned till ca 1% koncentration av neutraliserat avloppsvatten. Sötvattensalgen *Selenastrum capricornutum* var mest känslig av de testorganismer som användes. Neutralisering (justering till pH 7) reducerade giftverkan på sebrafisk. Detta kan bero på att den direkta pH-effekten på fisken eliminerades, men troligen är också toxiciteten av organiska komponenter i avloppsvattnet pH-beroende. Detta är känt för vissa organiska syror.

Uttryckt i förhållande till avloppsvattnets innehåll av organiskt material, motsvarar EC₅₀-värdet för effekt på algernas växthastighet (4.2%) en koncentration av 800 mg TOC/l. Det betyder att de organiska huvudkomponenterna i avloppsvattnet har en ganska låg gifteffekt.

Nedbrytningen av det organiska materialet fortlöpte med jämn hastighet under hela testperioden (5 veckor). Efter denna period var 87 % av det lösta organiska kolet (DOC) omsatt. Nedbrytningsförloppet vid nebrytbarhetstesten tyder på en moderat nedbrytningshastighet av det organiska materialet. Kommunalt avloppsvatten visar t. ex. normalt ett betydligt snabbare nedbrytningsförlopp. Efter 5 veckor hade emellertid 87% av DOC omsatts och nedbrytningen hade inte stagnerat. Ännu högre nedbrytningsgrad hade därför troligen kunnat uppnås om testen hade förlängts ytterligare. Resultaten tyder på att avloppsvattnet kan behandlas med biologisk rening.

På grund av att avloppsvattnet måste spädas 50 ggr. vid nebrytbarhetstesten kunde reduktionen i toxicitet inte undersökas. Toxicitetstesterna efter nedbrytning visade dock att 5 veckors bionedbrytning inte medförde någon ökad giftverkan.

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.

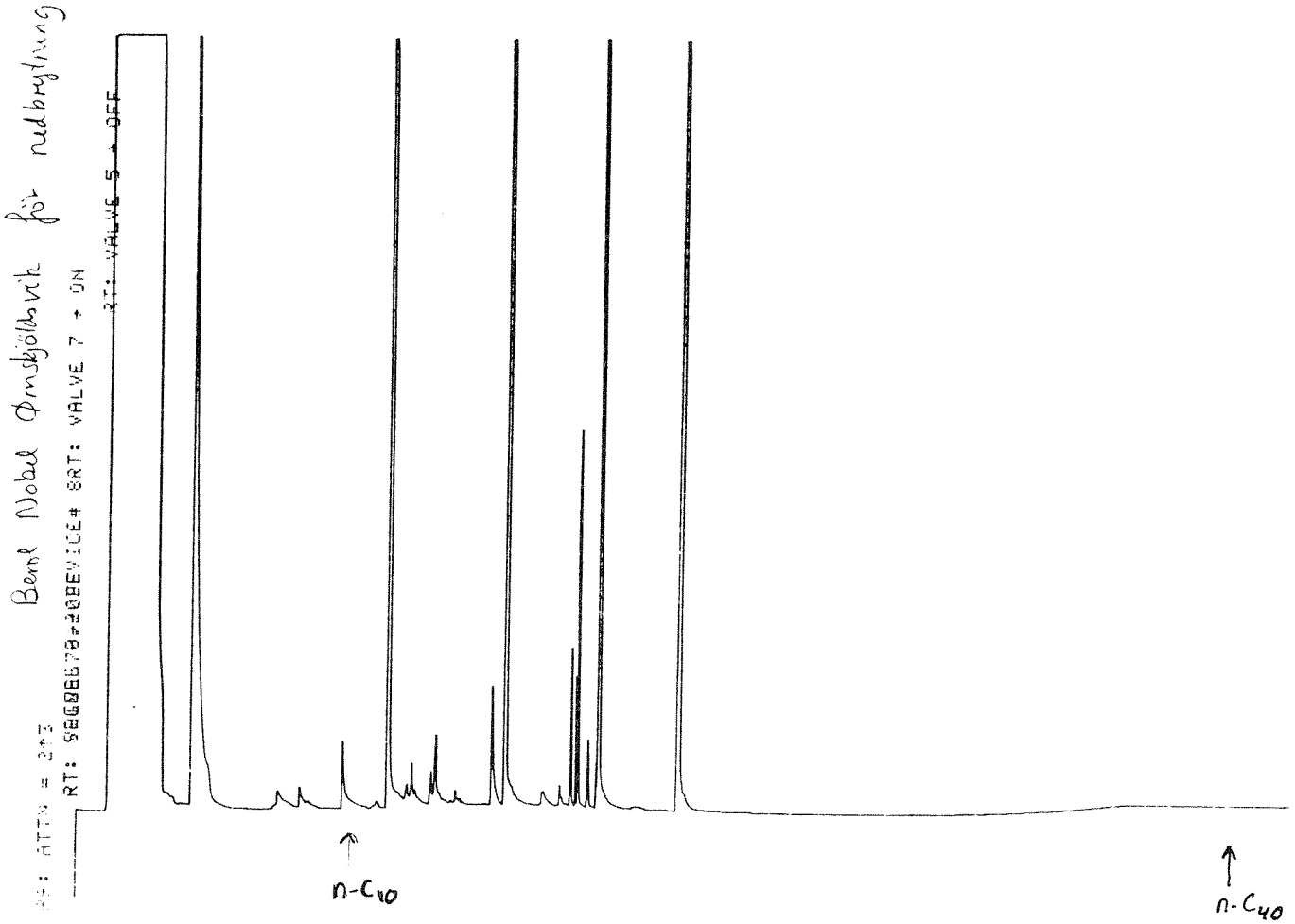
Prøvene ble ekstrahert med diklormetan. Prøveekstraktene ble rensert på en silica kolonne (Bond elut) for å fjerne polare forbindelser, før de ble analysert med gasskromatografi (GC). Denne teknikken gir opplysning om fordeling av ulike komponenter i prøven som funksjon av kokepunkt. Dette vil gi opplysning 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

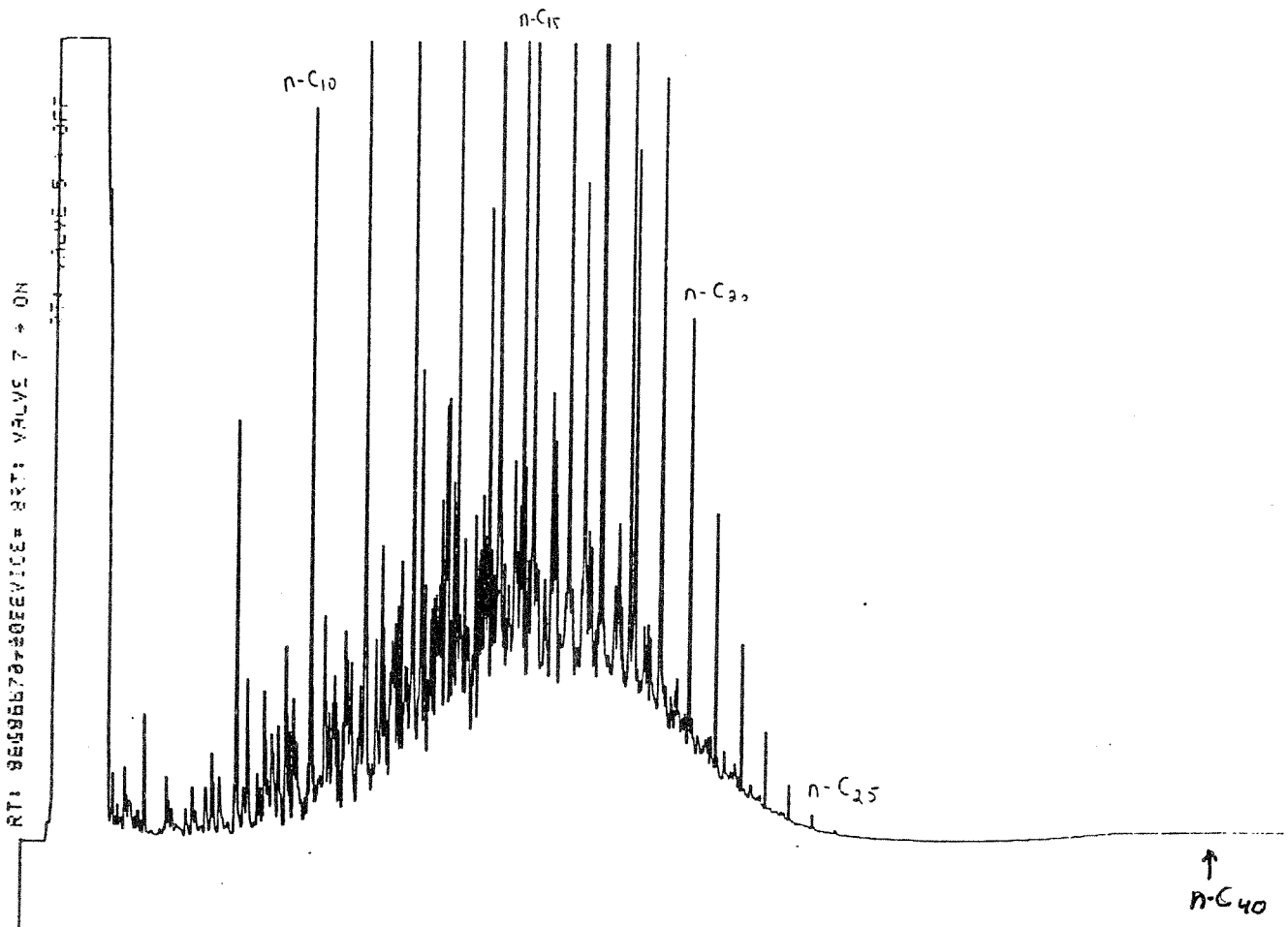
Avløpsvannprøven fra Berol Nobel, Örnköldsvik før nedbrytning innholdt 350 mg hydrokarboner/l, kvantifisert mot marin diesel som ekstern standard. Hydrokarbonene er i kokepunktområdet 150 °C til 340 °C (C₉-C₂₀). Som det går frem av kromatogrammene (vedlagt) danner ikke hydrokarbonene noen kjent mineraloljeprofil. Ekstraktene må derfor analyseres videre med koplet gasskromatografi-massespektrometer (GC/MS) dersom man ønsker en identifikasjon av komponentene i disse to prøvene. I prøven etter nedbrytning (fortynnet 50 ggr.) kunne mineralolje ikke påvises. Påvisningsgrensen for denne analysen er satt til 0.05 mg/l.

Kromatogrammene for prøvene før og etter nedbrytning er vedlagt.



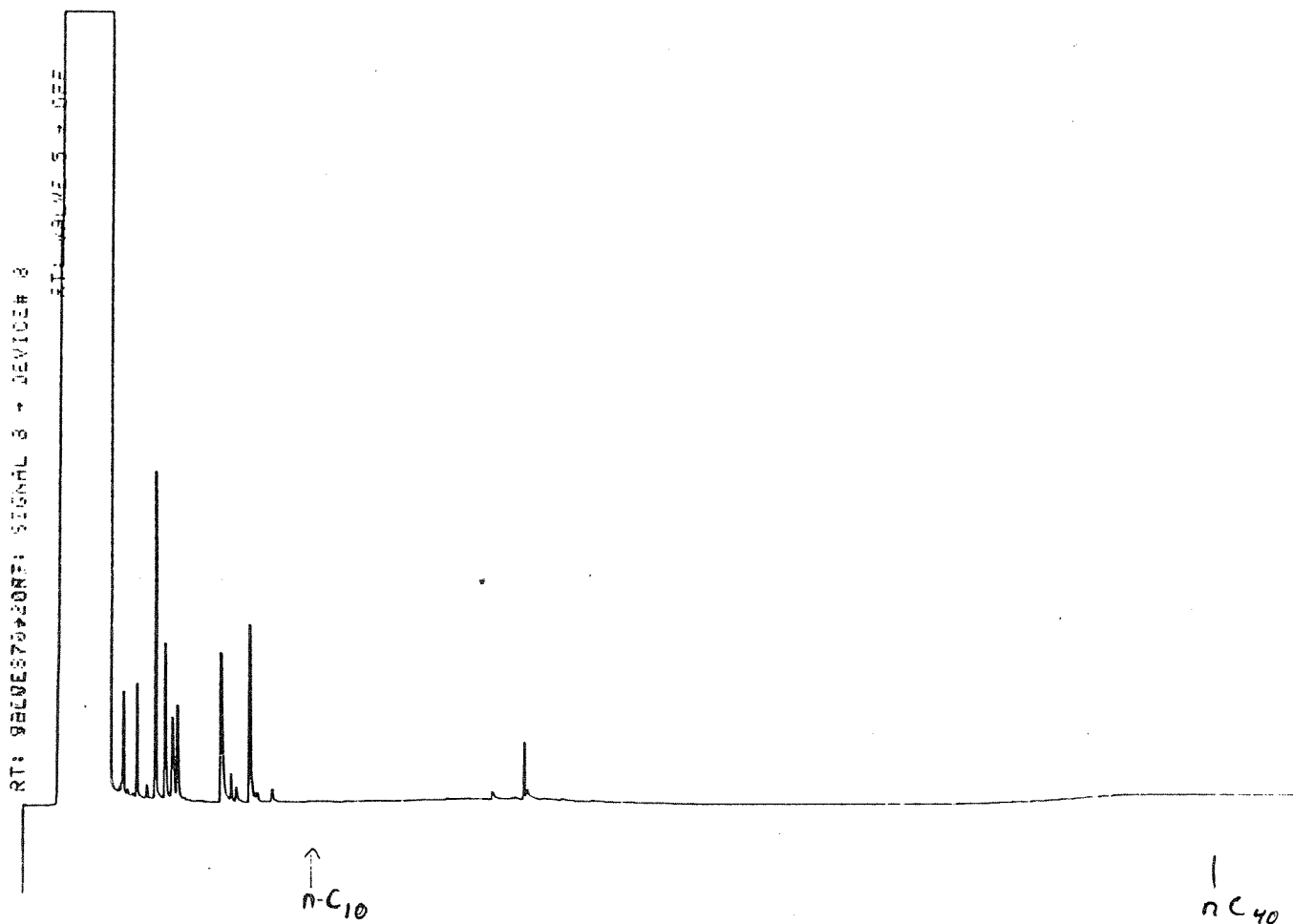
Figur 7

Berol Nobel, Ørnkjøldsvik før nedbryting
Prøvevolum: 2050 ml
Ekstraktvolum: 850 ml
Mengde hydrokarboner: 350 ppm



Figur 12

Standard marin diesel

**Figur 11****Blindprøve, springvann****Prøvevolum: 2000ml****Ekstraktvolum: 1 ml****Mengde hydrokarboner: < 0.05 ppm**

APPENDIX 2

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 viderefraksjonert på tynnsjikt (TLC) i tre fraksjoner.

I Fraksjon: Applikasjonszone

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

III " : $P_{ow} > 10^5$

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 tillempning av en metode utarbeidet av Lars Renberg et al.¹ 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/hexan-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.

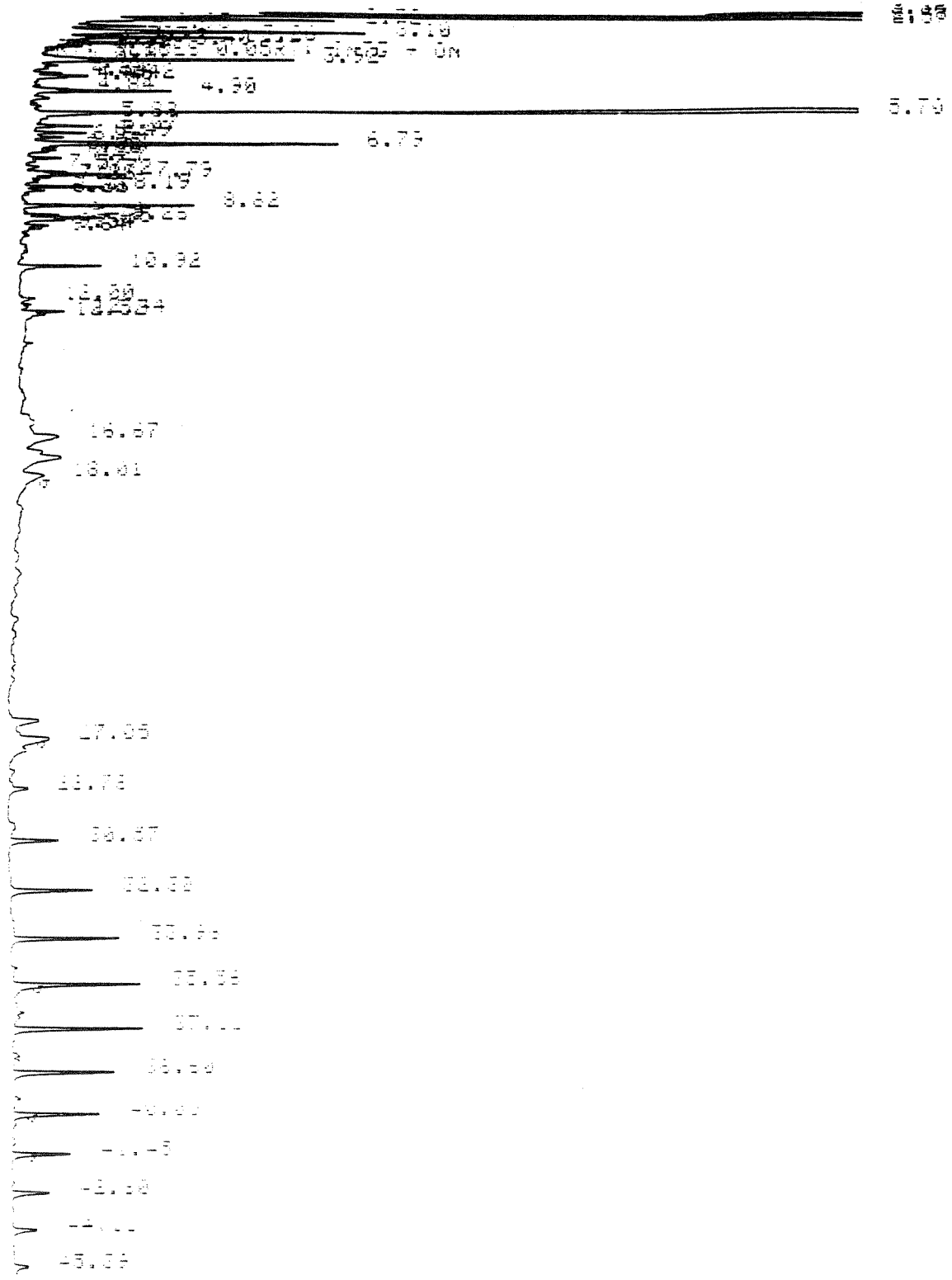
Attn. før TLC 2⁵

Attn. etter TLC 2³

Ytre standard n-C₁₈H₃₈ = 106,9 µg/ml før TLC

Indre standard " " etter TLC

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



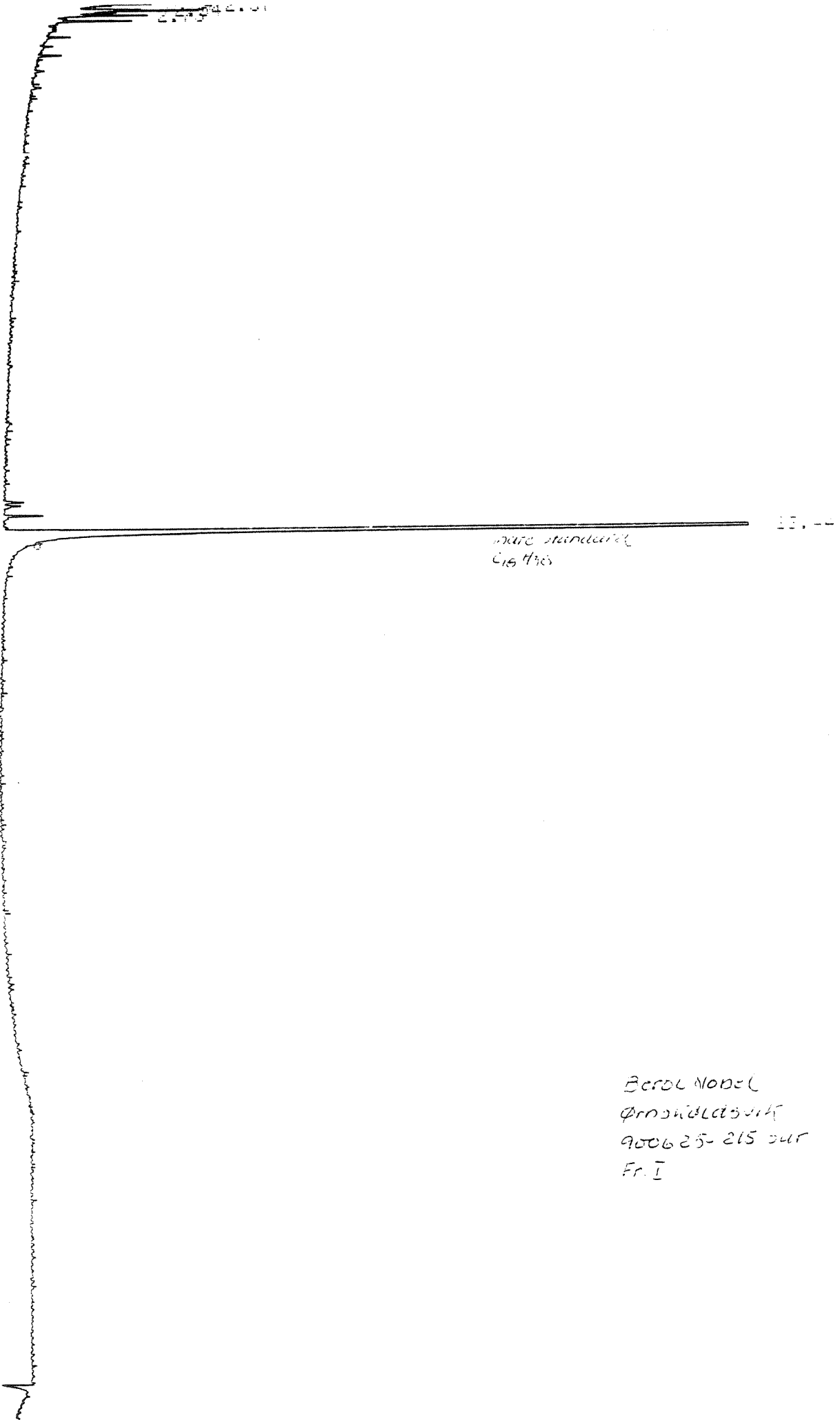
0.50

24

0.70

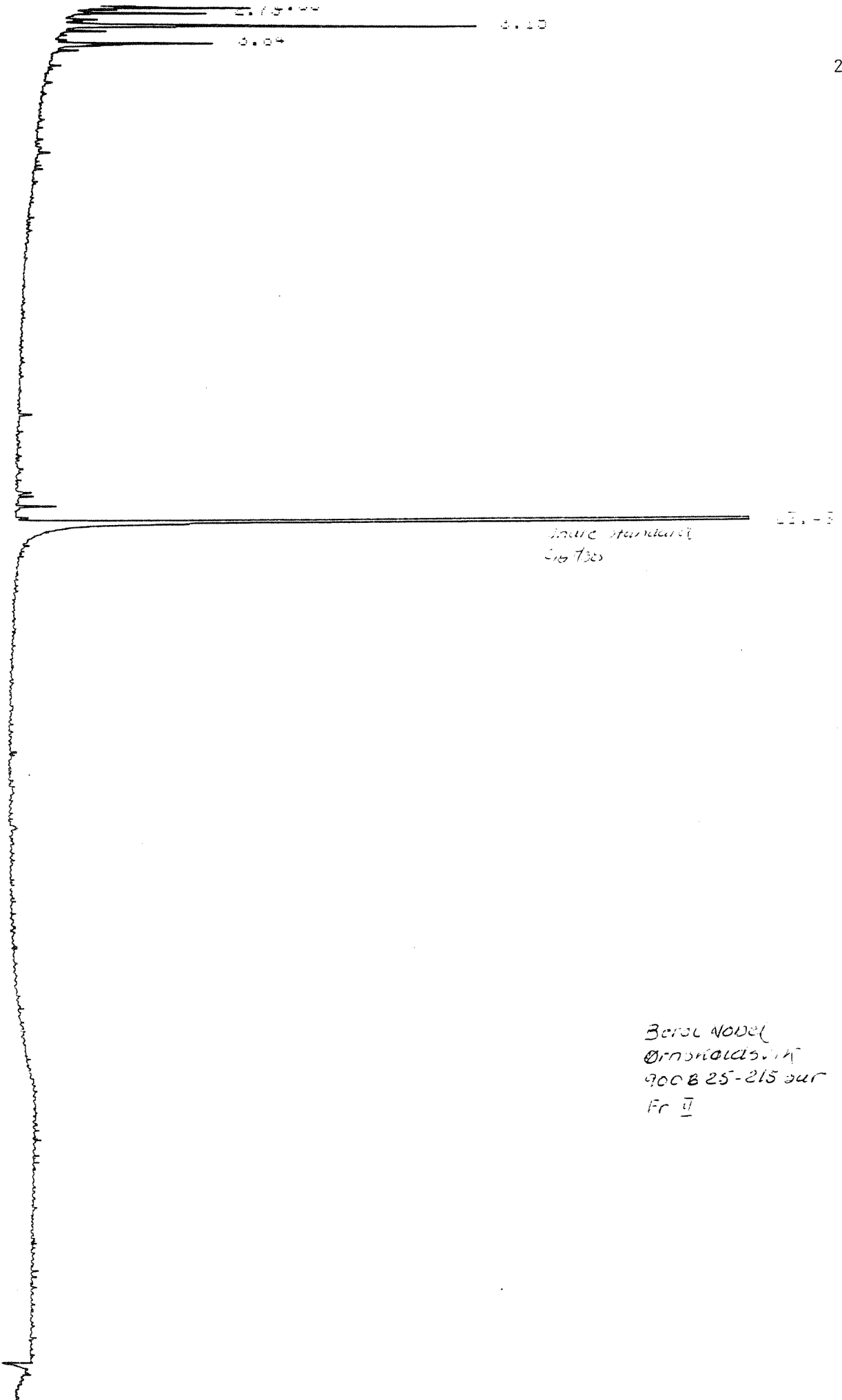
RT: 43.06 - OFF

Gene Vance 0-1-11
 For TLE
 900618-215 04/11/11



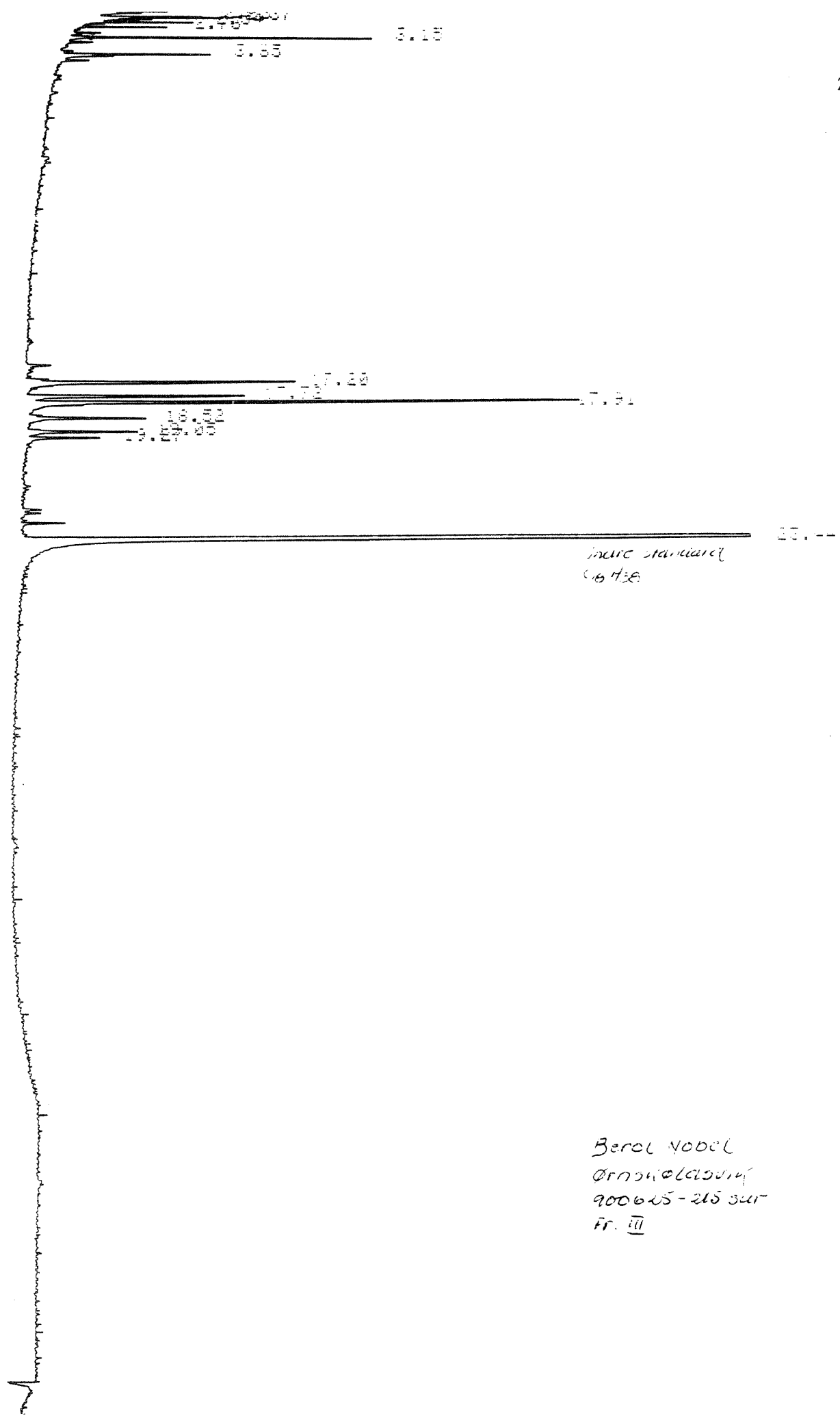
more standard
C16 this

Berol Model
 Ørnskovlaborat
 9006 25-215 sur
 Fr. I

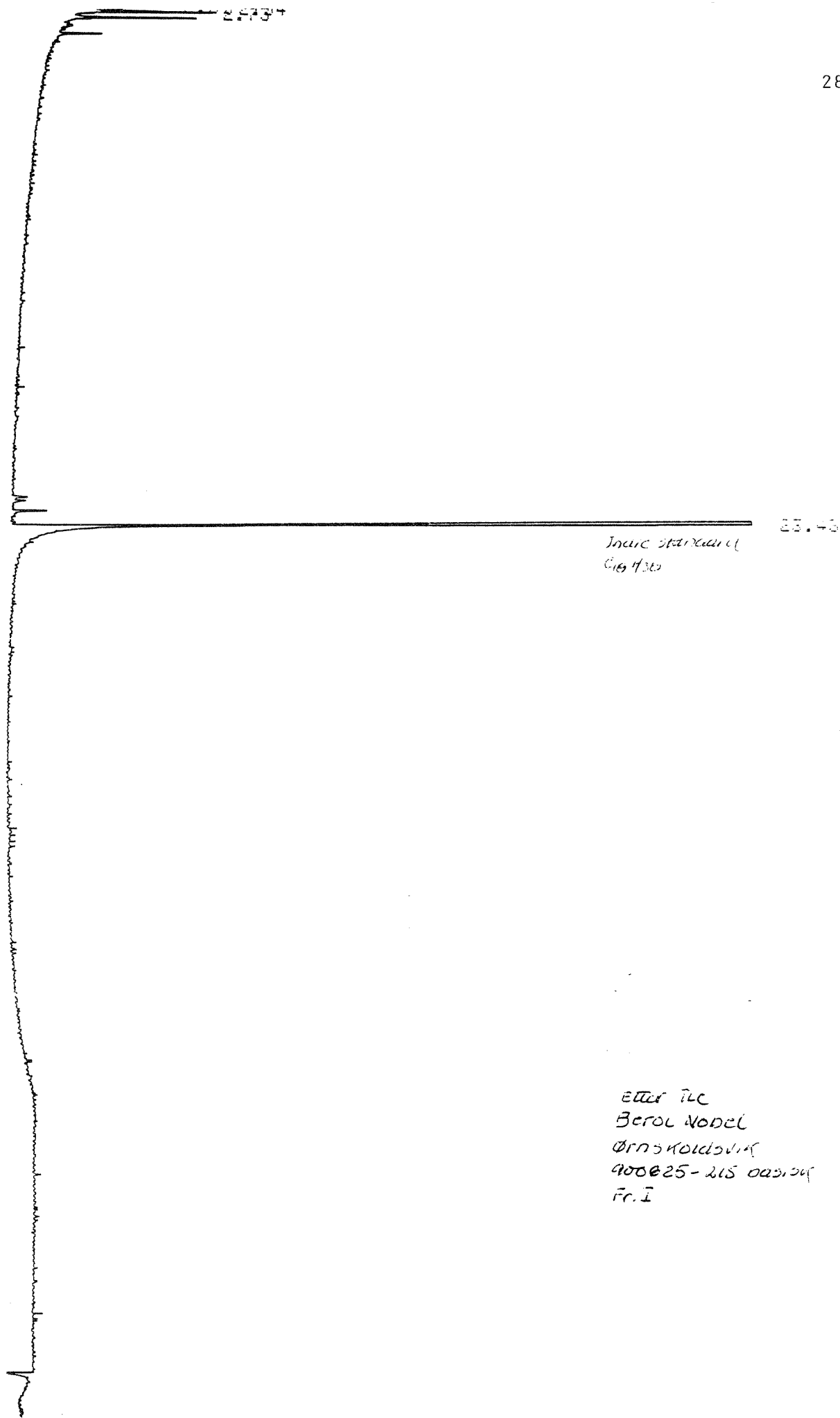


Inure standard
1000

Bersel Model
Ornskoldsvik
900825-215 sur
Fr II



Berol Nobel
 Ornskoldsvik
 900625-215 sur
 Fr. III



1197

29

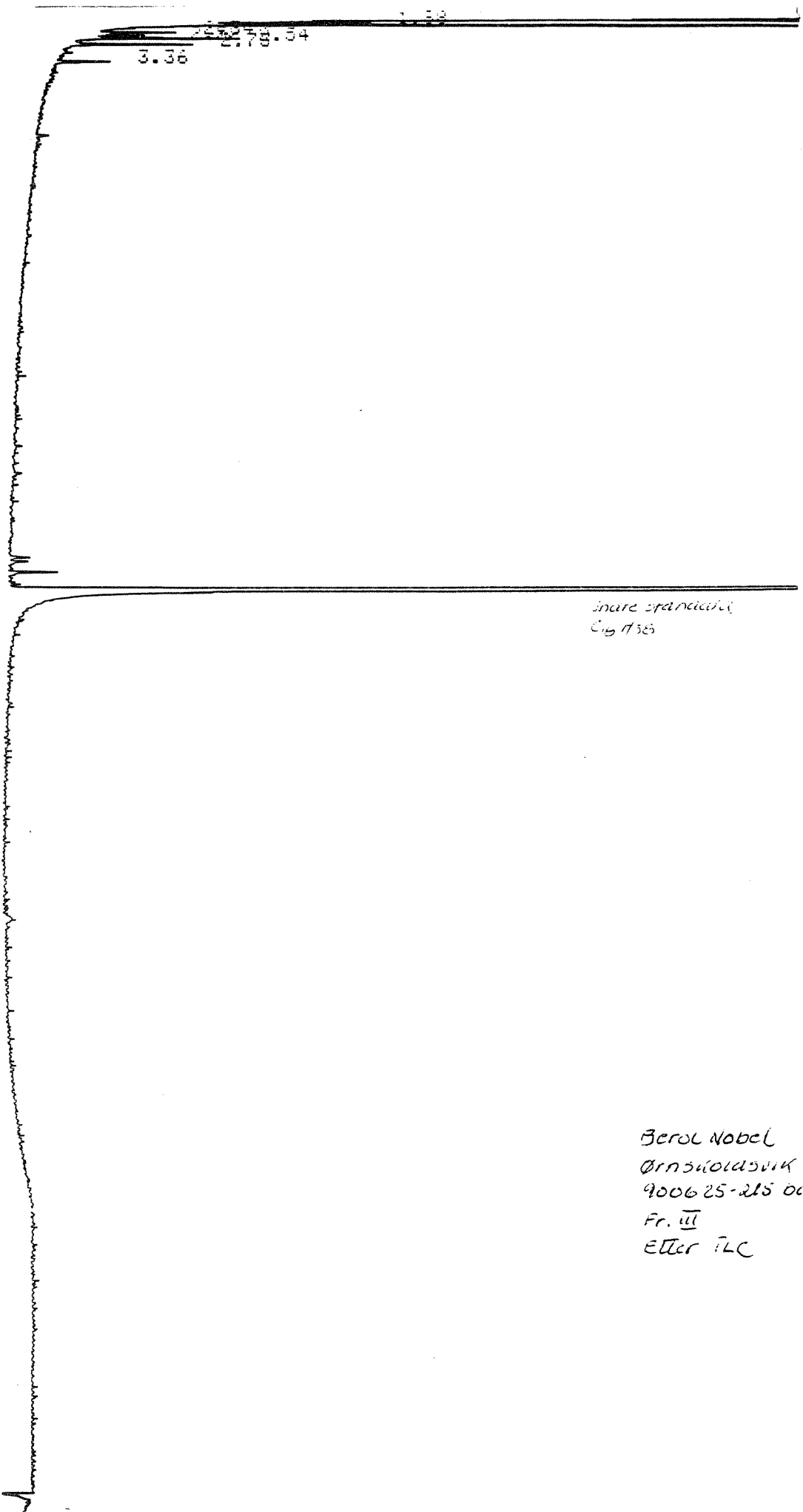
2.58
2.6725

13.42

metre standard
C₆₀F₃₈

Berol Nobel
Ørnsholdsvik
900625-215 basist
Fr. II
etter TLC

11/11



Innare standard
C15 1735

Berol Nobel
Ørnsholmsvik
900625-215 basisk
Fr. III
Etter TLC

APPENDIX 3

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, Ørnskjøldsvik

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: 25.06. 1990.

BETINGELSER FOR TESTPRØVER:

Testkonsentrasjoner: 1. serie: 1,0 1,8 3,2 5,6 10 18 32 og 56% avløpsvann.
2. serie:

Slamkonsentrasjon i testprøvene; 1. testserie: 60 mg STS/L
2. testserie:

pH i testløsningene: 7,2

Testtemperatur: $20 \pm 2^{\circ} \text{C}$

Abiotisk oksygenforbruk i fysisk-kjemisk kontroll $< 0,1 \text{ mg/L}$

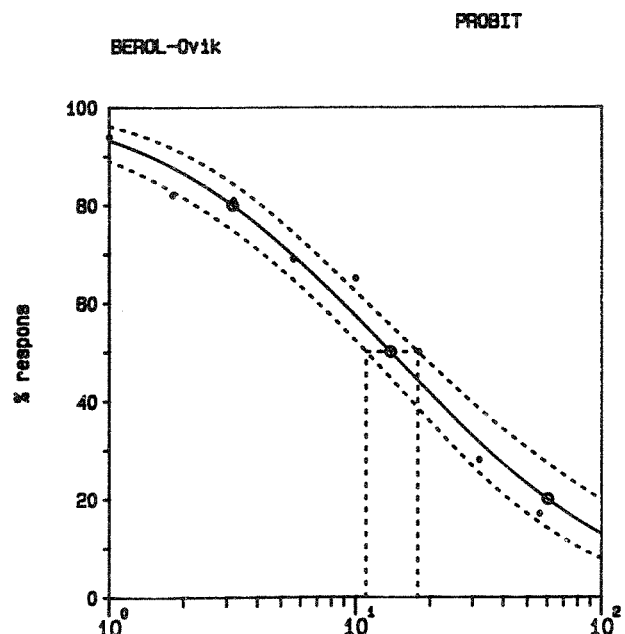
REFERANSESTOFF: 3,5-diklorfenol: EC_{50} -verdi på testslammet: 5,7 mg/L

RESULTATER:

EC_{50}	95% konfidensintervall	EC_{20}	EC_{80}
13,8 %	11,0 - 18 %	3,2 %	60 %

Kommentarer:

Det ble registrert hemning på respirasjonsaktiviteten over et bredt konsentrasjons- område. Probit-diagrammet illustrerer det spesielle forløp.



APPENDIX 4

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 fortyningsserie 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, Γ_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 Γ -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 :

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

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 %:

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

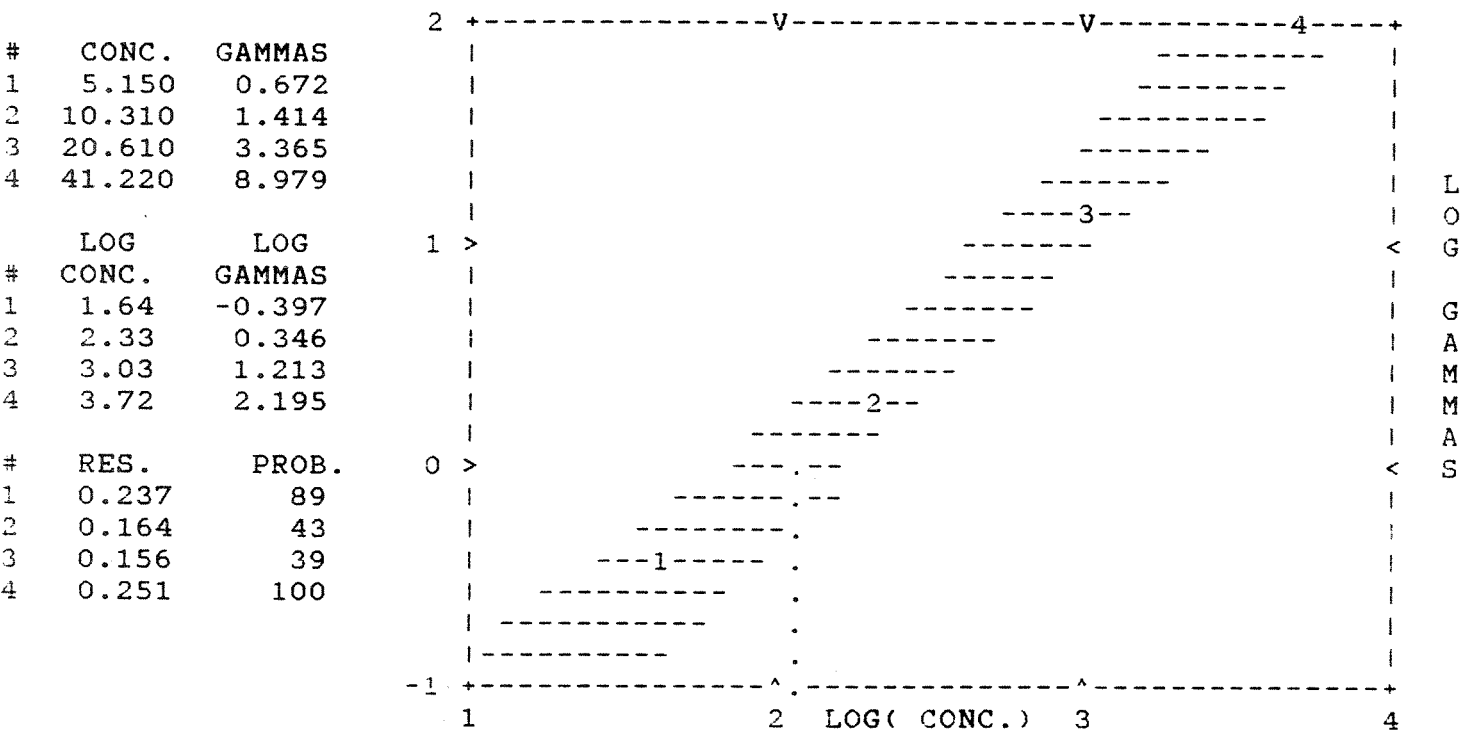
Berol, 0-vik, ukepr. før nedbr. bakt. batch 910, 5min. eksp.

PAIR #	CONC.	Io/It	G-OBS	G-EST
1	5.150	95.0/ 55.9	0.672	0.633
2	10.310	88.3/ 36.0	1.414	1.504
3	20.610	92.7/ 20.9	3.365	3.566
4	41.220	94.3/ 9.3	8.979	8.462

BLANK Bo/Bt= 88.1 / 86.7
 BLANK RATIO= 0.9841

EC 50 = 7.451 (6.143 TO 9.039)
 EC 20 = 2.461 (1.707 TO 3.548)
 EC 80 = 22.561 (19.079 TO 26.678)

R = 0.99808 SLOPE = 0.7991 INTERCEPT = +2.0084



MICROTOX is a Registered Trade Mark of the Microbics Corporation.

MICROTOX(r) DATA SHEET

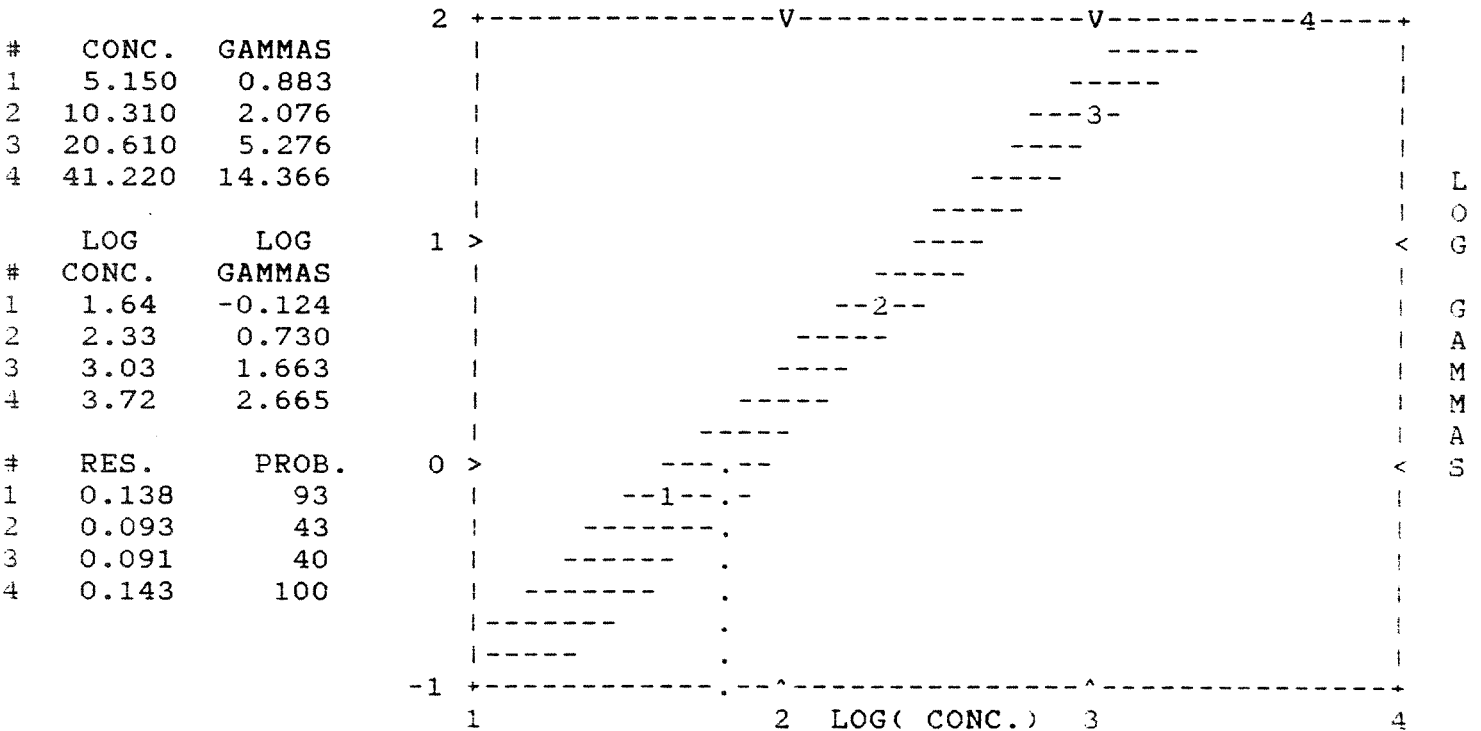
Berol, Ø-vik, ukepr. før nedbr. bakt. batch. 910, 15min. eksp.

PAIR #	CONC.	Io/It	G-OBS	G-EST
1	5.150	95.0/ 48.5	0.883	0.851
2	10.310	88.3/ 27.6	2.076	2.158
3	20.610	92.7/ 14.2	5.276	5.466
4	41.220	94.3/ 5.9	14.366	13.851

BLANK Bo/Bt= 88.1 / 84.7
 BLANK RATIO= 0.9614

EC 50 = 5.817 (5.106 TO 6.629)
 EC 20 = 2.073 (1.650 TO 2.603)
 EC 80 = 16.329 (14.997 TO 17.778)

R = 0.99936 SLOPE = 0.7445 INTERCEPT = +1.7609



MICROTOX is a Registered Trade Mark of the Microbics Corporation.

100% - lysning.

DATO	21/8 90
FØLSOMHET	1,705
BATCH	002
KJØRTAV	140

PRØVE	Berec. Lysning etter nedl. inngitt.
UL	SL
PH i UL	_____ korr. til _____
med	4cc. 400L

$\sum_{0,5}$	$\sum_{1,5}$
1022	905
922	135
612	14
$\bar{X}_{0,5}$	$\bar{X}_{1,5}$
972	948
$T_{1,5}$	$A_{1,5}$
	2,5%

$\sum_{0,15}$	$\sum_{1,15}$
$\bar{X}_{0,15}$	$\bar{X}_{1,15}$
$T_{1,15}$	$A_{1,15}$

Beregninger:

$$T' = \frac{\bar{X}'_{BLANK} - 1}{\bar{X}'}$$

Lysminskning i %

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

APPENDIX 5

Toxicitetstester med *Selenastrum capricornutum*

NORSK INSTITUTT FOR VANNFORSKNING

TOKSISITETSTEST MED ALGER

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

Prøve: Avløpsvann fra Berol Nobel, Örnsköldsvik, ukeblandprøve
11-17/6 1990. (to tester)

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

Test Start dato: 25/6 og 28/6 1990 Varighet: 72 tim
dok: Testede konsentrasjoner: 0.1, 0.18, 0.32, 0.56, 1.0, 1.6,
1.8, 2.5, 3.2, 4.0, 5.6, 6.3 og 10%

Inku- 50 ml kulturer i 100 ml rundkolber. Inkubert på gyngbord
bering: Lys: 70 $\mu\text{E}/\text{m}^2/\text{s}$, kontinuerlig fra "dagslys"-lysstoffrør
Temperatur: 20 °C
pH i kontroll ved start: 7.7 pH ved slutt: 8.5
Måling av celletetthet: Partikkelteiling med
Coulter Multisizer

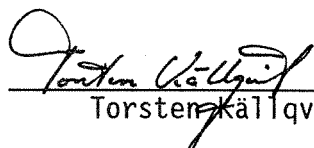
Resultat: Tabell 1 viser celletetthet ved hvert målepunkt, beregnet areal under vekstkurven og veksthastighet i hver kolbe. Middelerverdier for hver konsentrasjon og for kontrollene er listet nederst i tabellen. Vekstkurvene for hver konsentrasjon er vist i figur 1. Konsentrasjon/respons-kurver for veksthastighet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

	Veksthastighet	Areal under vekstkurve
EC ₅₀ :	4.2%	2.5%
95 % conf. lim.	3.96 - 4.48%	2.19 - 2.77%
NOEC	1.8%	1.8%

EC₅₀ (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 Källqvist

TEST:>> ISO/DIS 8692

Tabell 1.

Dato>>> 25.6.90

TESTSTOFF>>>> Berol Nobel, Ørnskøldsvik

TESTALGE>>>>> *Selenastrum capricornutum*

Medium> ISO

INOKULUM>>>>>

10 mill. celler/l

	Timer:	Dag 1	Dag 2	Dag 3	Areal	Areal %	V. hast.	V. hast %
		24 mill/l	49.5 mill/l	72 mill./l				
Kons. 1 %	10	15	14	14	264.75	1	0.11	7
		18	13	13	303.75	1	0.09	5
		16	13	13	254.25	1	0.09	5
Kons.2	5.6	18	16	16	409.5	2	0.16	10
		17	18	18	455.25	2	0.20	12
		18	19	19	515.25	2	0.21	13
Kons. 3	3.2	26	68	234	4308	19	1.05	65
		26	70	250	4536	20	1.07	67
		24	56	218	3790.5	17	1.03	64
Kons. 4	1.8	52	292	1150	20632.5	93	1.58	98
		55	318	1190	21780.75	98	1.59	99
		56	300	1217	21677.25	98	1.60	99
Kons. 5	1	66	456	1661	30663.75	138	1.70	106
		68	484	1651	31272.75	141	1.70	106
		68	412	1584	28791	130	1.69	105
Kons. 6	0.56	67	490	1848	33608.25	152	1.74	108
		70	513	2113	37215.75	168	1.78	111
		68	524	1984	35979	162	1.76	110
Kons. 7	0.32	64	446	1494	28495.5	128	1.67	104
		64	467	1379	27705.75	125	1.64	102
		65	473	1480	29010.75	131	1.67	104
Kontroll		55	312	1175	21468	97	1.59	99
		56	321	1238	22417.5	101	1.61	100
		53	315	1424	24291.75	110	1.65	103
		52	298	1318	22666.5	102	1.63	101
		49	266	1075	19090.5	86	1.56	97
		55	330	1287	23160	104	1.62	101

MIDDELVERDIER

10.00 Mv:	16.33	13.33	13.33	274.25	1.24	0.10	5.95
St. d.	1.25	0.47	0.47	21.30	0.10	0.01	0.72
5.60 Mv.	17.67	17.67	17.67	460.00	2.07	0.19	11.74
St. d.	0.47	1.25	1.25	43.30	0.20	0.02	1.49
3.20 Mv.	25.33	64.67	234.00	4211.50	18.99	1.05	65.29
St. d.	0.94	6.18	13.06	311.90	1.41	0.02	1.16
1.80 Mv.	54.33	303.33	1185.67	21363.50	96.31	1.59	98.93
St. d.	1.70	10.87	27.52	518.62	2.34	0.01	0.48
1.00 Mv.	67.33	450.67	1632.00	30242.50	136.34	1.70	105.55
St. d.	0.94	29.63	34.19	1056.05	4.76	0.01	0.44
0.56 Mv.	68.33	509.00	1981.67	35601.00	160.49	1.76	109.55
St. d.	1.25	14.17	108.20	1496.81	6.75	0.02	1.13
0.32 Mv.	64.33	462.00	1451.00	28404.00	128.05	1.66	103.11
St. d.	0.47	11.58	51.23	536.68	2.42	0.01	0.74
Kontroll Mv.	53.33	307.00	1252.83	22182.38	100.00	1.61	100.00
St. d.	2.36	20.72	110.01	1620.95	7.31	0.03	1.84

TEST:>> ISO/DIS 8692

Tabell1 (forts.)

Dato>>> 25.6.90

TESTSTOFF>>>> Berol Nobel, Ørnskøldsvik

TESTALGE>>>> *Selenastrum capricornutum*

Medium> ISO

INOKULUM>>>>>

10 mill. celler/l

	Timer:	Dag 1	Dag 2	Dag 3	Areal	Areal %	V. hast.	V. hast %
		24	49.5	72				
		mill/l	mill/l	mill./l				
Kons. 1	0.18	59	416	1722	30216.75	136	1.72	107
%		61	433	1710	30539.25	138	1.71	107
		60	399	1806	30778.5	139	1.73	108
Kons.2	0.1	57	353	1821	29769	134	1.73	108
%		59	383	1968	32192.25	145	1.76	109
		59	361	1613	27670.5	125	1.69	105
Kons. 3								
Kons. 4								
Kons. 5								
Kons. 6								
Kons. 7								
Kontroll		55	312	1175	21468	97	1.59	99
		56	321	1238	22417.5	101	1.61	100
		53	315	1424	24291.75	110	1.65	103
		52	298	1318	22666.5	102	1.63	101
		49	266	1075	19090.5	86	1.56	97
		55	330	1287	23160	104	1.62	101

MIDDELVERDIER

0.18 Mv:	60.00	416.00	1746.00	30511.50	137.55	1.72	106.95
St. d.	0.82	13.88	42.71	230.17	1.04	0.01	0.50
0.10 Mv.	58.33	365.67	1800.67	29877.25	134.69	1.73	107.53
St. d.	0.94	12.68	145.64	1847.58	8.33	0.03	1.70
0.00 Mv.							
St. d.							
0.00 Mv.							
St. d.							
0.00 Mv.							
St. d.							
0.00 Mv.							
St. d.							
0.00 Mv.							
St. d.							
Kontroll Mv.	53.33	307.00	1252.83	22182.38	100.00	1.61	100.00
St. d.	2.36	20.72	110.01	1620.95	7.31	0.03	1.84

TEST:>> ISO/DIS 8692

Tabell 1

Dato>>> 28.6.90

TESTSTOFF>>>> Berol Nobel, Ørnsköldsvik (test 2)

TESTALGE>>>> *Selenastrum capricornutum*

Medium> ISO

INOKULUM>>>>>

10 mill. celler/l

	Timer:	Dag 1 28 mill/l	Dag 2 53 mill/l	Dag 3 73 mill./l	Areal	Areal %	V. hast.	V. hast %
Kons. 1	6.3	24	31	38	1123.5	4	0.44	26
%		23	26	34	944.5	3	0.40	24
		25	27	33	1010	3	0.39	23
Kons. 2	4	40	77	204	4242.5	14	0.99	59
%		40	75	204	4197.5	14	0.99	59
		41	92	206	4626.5	15	0.99	59
Kons. 3	2.5	58	304	713	14917	49	1.40	84
%		56	316	681	14814	49	1.39	83
		63	340	764	16369.5	54	1.43	85
Kons. 4	1.6	74	587	1340	27978.5	93	1.61	96
%		83	585	1420	28972	96	1.63	97
		78	695	1535	32464.5	108	1.65	99
Kons. 5	1	80	728	2030	38210	127	1.75	104
%		81	684	1860	35546.5	118	1.72	103
		84	748	1965	38116	126	1.74	104
Kons. 6								
Kons. 7								
Kontroll		99	557	1434	28906	96	1.63	98
		88	629	1600	31894.5	106	1.67	100
		92	532	1542	29238	97	1.66	99
		81	522	1517	28471.5	94	1.65	99
		85	454	1741	29287.5	97	1.70	101
		75	566	1900	33132.5	110	1.73	103

MIDDELVERDIER

6.30 Mv:	24.00	28.00	35.00	1026.00	3.40	0.41	24.60
St. d.	0.82	2.16	2.16	73.95	0.25	0.02	1.19
4.00 Mv.	40.33	81.33	204.67	4355.50	14.44	0.99	59.37
St. d.	0.47	7.59	0.94	192.50	0.64	0.00	0.09
2.50 Mv.	59.00	320.00	719.33	15366.83	50.96	1.41	84.07
St. d.	2.94	14.97	34.18	710.24	2.36	0.02	0.93
1.60 Mv.	78.33	622.33	1431.67	29805.00	98.84	1.63	97.60
St. d.	3.68	51.39	80.03	1923.79	6.38	0.02	1.09
1.00 Mv.	81.67	720.00	1951.67	37290.83	123.66	1.73	103.71
St. d.	1.70	26.73	70.04	1234.03	4.09	0.01	0.71
0.00 Mv.							
St. d.							
0.00 Mv.							
St. d.							
Kontroll Mv.	86.67	543.33	1622.33	30155.00	100.00	1.67	100.00
St. d.	7.67	52.60	155.29	1726.22	5.72	0.03	1.84

Berol Nobel, Örnsköldsvik Selenastrum, vekstkurver

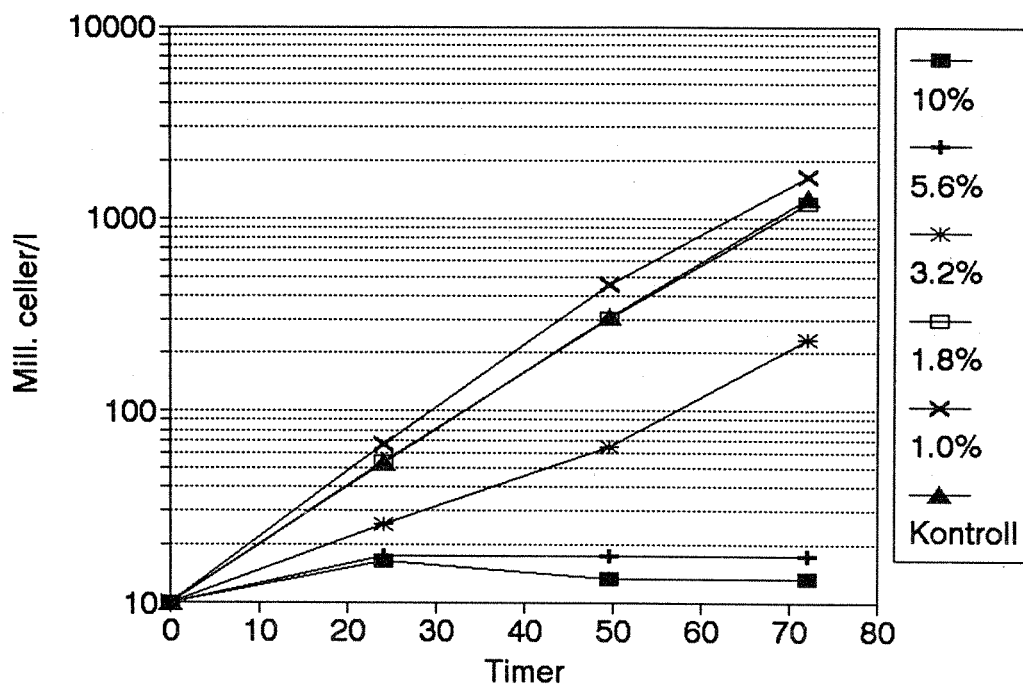


Fig. 1. Vekstkurver for *Selenastrum capricornutum* i ulike konsentrasjoner av avløpsvann.

Berol Nobel, Örnsköldsvik Selenastrum, veksthastighet

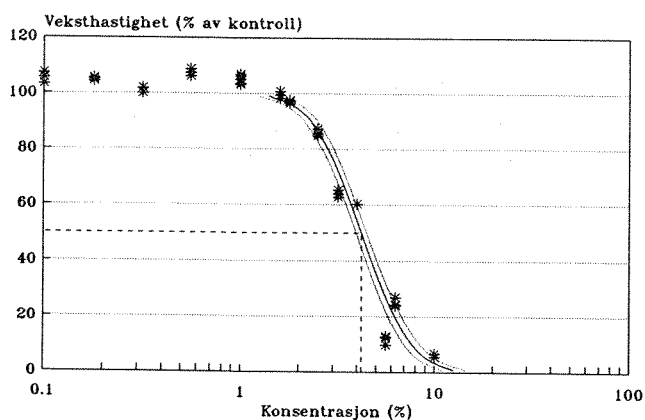


Fig. 2. Effekt av avløpsvann på veksthastigheten hos *Selenastrum capricornutum*

Berol Nobel, Örnsköldsvik Selenastrum, areal under vekstkurve

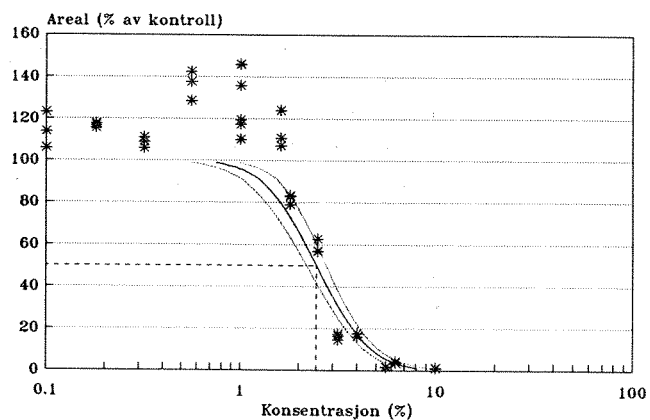


Fig. 3. Effekt av avløpsvann på areal under vekstkurve for *S. capricornutum*

NORSK INSTITUTT FOR VANNFORSKNING

TOKSISITETSTEST MED ALGER

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

Prøve: Avløpsvann fra Berol Nobel, Örnsköldsvik, ukeblandprøve 11-17/6 1990, etter nedbrytning (fortynnet 1:50 ved nedbrytbarhetstest).

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

Test dok: Start dato: 25/6 og 28/6 1990 Varighet: 72 tim
Testede konsentrasjoner: 0.64, 1.12 og 1.8 %. (Konsentrasjonene korrigerert for fortynning ved nedbrytbarhetstesten).

Inku- 50 ml kulturer i 100 ml rundkolber. Inkubert på gyngbord
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: 8.6
Måling av celletetthet: Partikkel telling med Coulter Multisizer

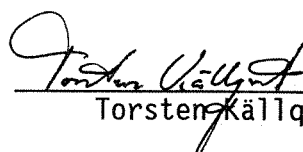
Resultat: Tabell 1 viser celletetthet ved hvert målepunkt, beregnet areal under vekstkurven og veksthastighet i hver kolbe. Middelerverdier for hver konsentrasjon og for kontrollene er listet nederst i tabellen. Vekstkurvene for hver konsentrasjon er vist i figur 1. Konsentrasjon/respons-kurver for veksthastighet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

	Veksthastighet	Areal under vekstkurve
EC ₅₀ :	1.8%	1.0%
95 % conf. lim.	1.51 - 2.05%	0.89 - 1.17%
NOEC	1.12%	1.12%

EC₅₀ (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 Källqvist

Tabell 1

TEST:>> ISO/DIS 8692

Dato>>> 06.08.90

TESTSTOFF>>>> Berol Ørnskøldsvik, etter nedbrytning (kons. korrigert for fortynning ved nedbr.)

TESTALGE>>>>> *Selenastrum capricornutum*

Medium ISO

INOKULUM>>>>> 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	%: 1.8	34	90	141	3948	15	0.82	53
		32	87	141	3828	15	0.82	53
		34	95	126	3888	15	0.78	50
Kons.2	%: 1.12	59	132	306	7536	29	1.08	69
		57	128	302	7344	28	1.08	69
		64	140	400	8976	35	1.17	75
Kons. 3	%: 0.64	68	368	956	21216	82	1.46	93
		67	358	902	20304	79	1.44	92
		73	412	1150	24720	96	1.52	97
Kons. 4								
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

%: 1.8	Mv.	33.33	90.67	136.00	3888.00	15.04	0.81	51.81
	St. d.	0.94	3.30	7.07	48.99	0.19	0.02	1.13
%: 1.12	Mv.	60.00	133.33	336.00	7952.00	30.76	1.11	70.97
	St. d.	2.94	4.99	45.28	728.31	2.82	0.04	2.77
%: 0.64	Mv.	69.33	379.33	1002.67	22080.00	85.42	1.47	94.39
	St. d.	2.62	23.46	106.49	1903.53	7.36	0.03	2.21
0.00	Mv.							
	St. d.							
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

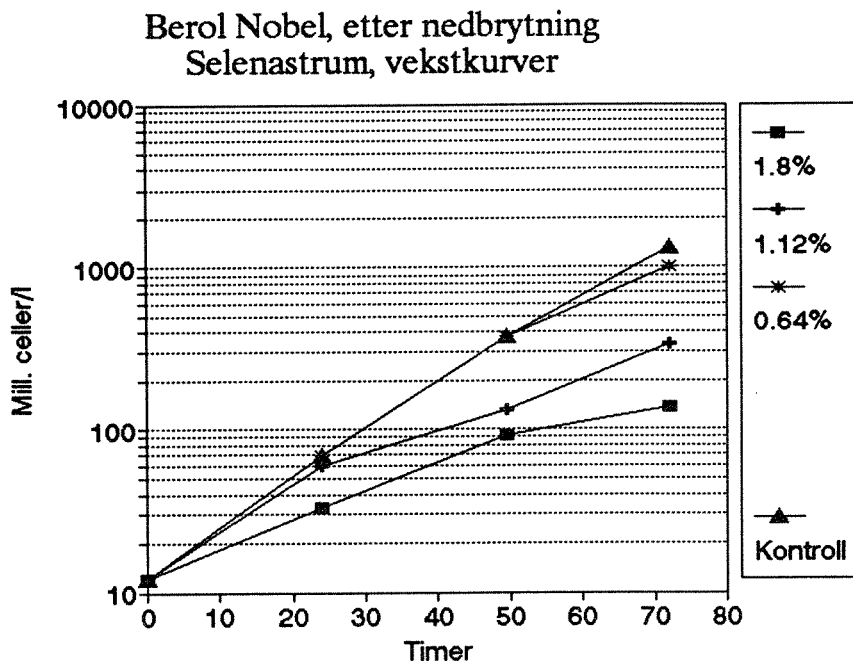


Fig. 1. Vekstkurver for *Senastrum capricornutum* i ulike konsentrasjoner av avløpsvann.

Berol Nobel, 0-vik, etter nedbrytning
Senastrum, veksthastighet

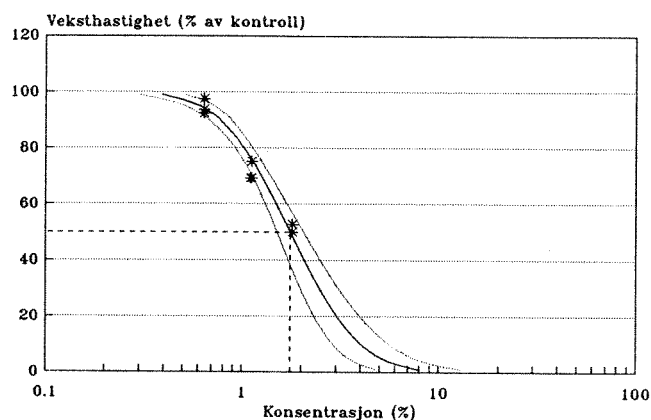


Fig. 2. Effekt av avløpsvann på veksthastigheten hos *Senastrum capricornutum*

Berol Nobel, 0-vik, etter nedbrytning
Senastrum, areal under vekstkurve

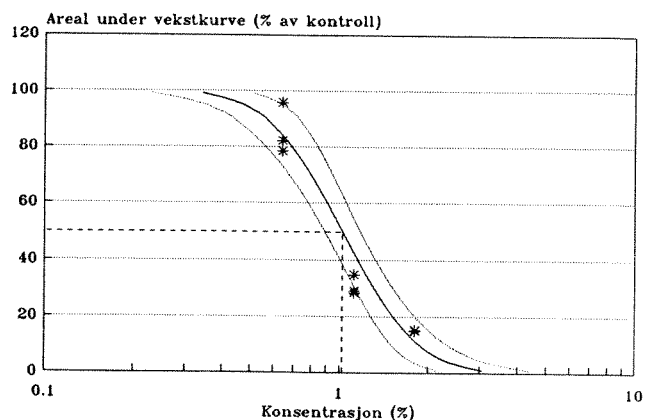


Fig. 3. Effekt av avløpsvann på areal under vekstkurve for *S. capricornutum*

APPENDIX 6

Akut toxicitet, *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 Örnsköldsvik. 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

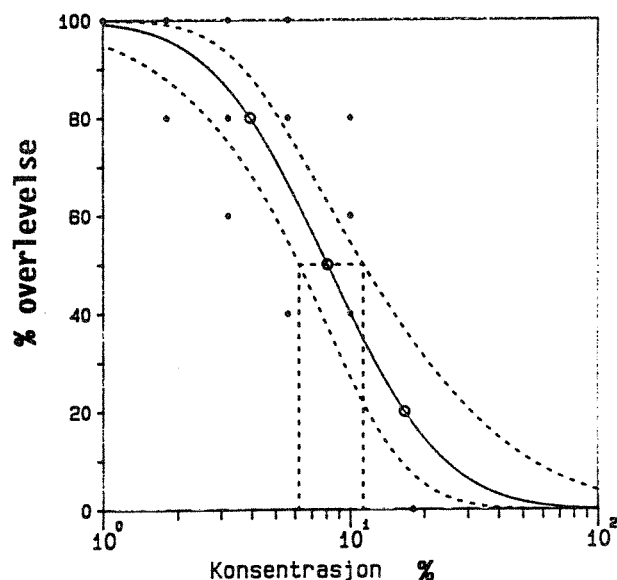
Verdier		95 % konfidensintervall
Avl.vann %		
LC ₅₀	8,1	6,2 - 11,3
LC ₂₀	3,9	
LC ₈₀	16,6	

Kommentarer:

Normal dose-respons kurve, data som viser noe variasjon.

Dose-respons diagram:

PROBIT



APPENDIX 7

Akut toxicitet, Sebrafisk

TOKSISITETSTEST MED FISK

Testmetode: Tester er utført i overensstemmelse med Norsk Standard NS 4757 (identisk med svensk standard SS028162, 1981) "Kjemiske produkters akutte toksisitet for ferskvannsfisk".

Teststoff: Avløpsvann. Nøytralisert og ikke nøytralisert.

Testorganisme: Som forsøksfisk ble benyttet sebrafisk (*Brachydanio rerio*) med middellengde 37.1 cm (3.2-4.3 cm) og middelvekt 0.48 g oppdrettet stamme innkjøpt fra akvarieforretning. Fisken var således litt større enn det standarden foreskriver.

Utførelse: Forsøkene ble så langt det var mulig utført i overensstemmelse med Norsk Standard. Det ble benyttet 10 fisk i hver testløsning, 5 l løsning og ingen lufting. Forsøkene foregikk i termostatert rom med 8-12 timers lys. Temperaturen varierte mellom 21.2 og 23.3 °C under forsøkene. Innholdet av løst oksygen og pH ble målt hvert døgn og varierte innenfor standardens aksepterte grenser.

Resultater: Forsøksresultatene fremgår av tabell 1 og figur 1.

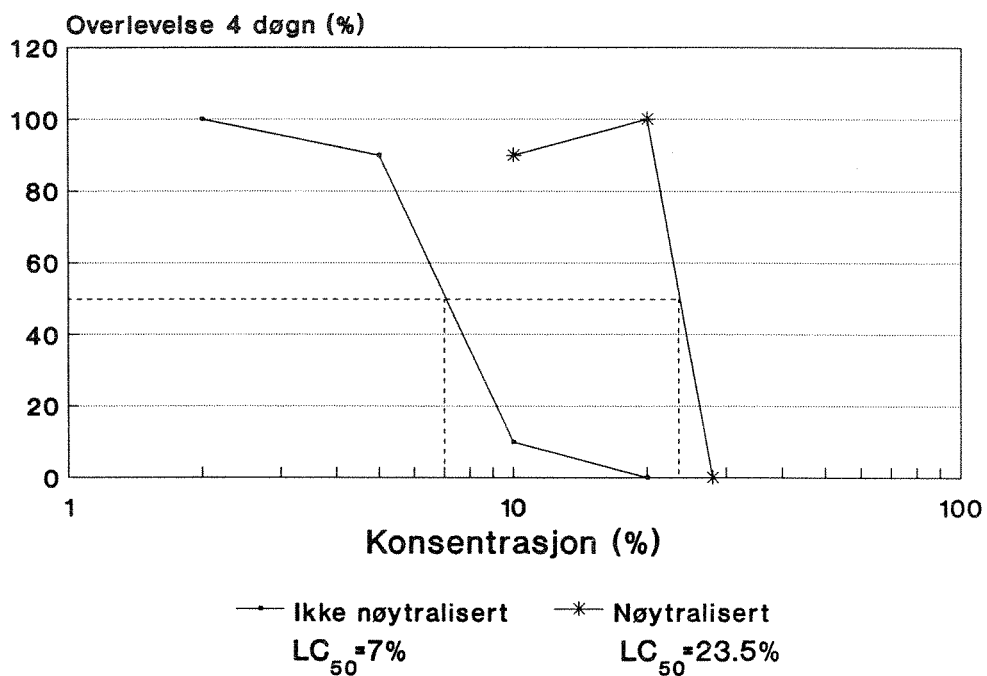
I nøytralisert avløpsvann døde 100% av fisken i en fortytning på 28% i løpet av 12 timer, mens alle overlevde 96 timer i 20%. 4 d LC₅₀ verdiene ble her bestemt til 23.5% (235 ml/l).

I det unøytraliserte avløpsvannet døde 90% av fisken i en fortytning på 10% i løpet av 4 døgn, mens 90% overlevde i samme tidsrom i 5% fortytning. 4 d LC₅₀ verdien ble bestemt til 7% (70 ml/l).

Det ble også foretatt en test av avløpsvann etter nedbrytning. Det oppsto ingen dødelighet i løpet av 4 døgn.

Tabell 1 Kumulativt antall (%) døde fisk etter forskjellig eksponeringstid i avløpsvann BEROL

Avløpsvann ml/l	Eksponeringstid, timer				
	12	24	48	72	96
Nøytralisert					
0					0
100				10	10
200					0
280	100				
Ikke nøytralisert					
0					0
20					0
50				10	10
100	20	50	70	90	90
200	100				



APPENDIX 8

Nedbrytbarhetstester

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

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

TESTSTOFF: BEROL Örnsköldsvik. Avløpsvann,

TESTBETINGELSER

APPARATUR: 60 L beholder (polyetylen), med magnetrørverk.

TEST-MEDIUM: Avløpsvann tilsatt saltløsninger og destillert vann til en fortykninggrad på 1:50 (2 %).

INOKULUM: Mikroorganismer fra luftet kom. avløpsvann (NS 4749) og effluent fra Husmann enhet (OECD) lab. anlegg.
Kimtall = $4,3 \times 10^5$ /ml. Tilsetning, 2 ml/L

INKUBASJON: Temperatur; 20 ± 1.0 °C . Varighet: 35 dager.

REFERANSE STOFF: Anilin 20 mg C/l
Nedbrytningsgrad, DOC reduksjon: 85 % etter 7 og 90 % etter 28 døgn.

Dato for test-start: 25.06. 1990

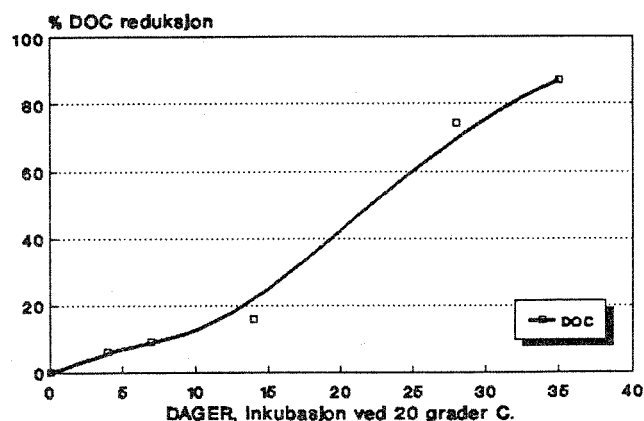
Løst organisk karbon DOC

BEROL-Sten.	Konsentrasjon etter x dager (mg/l C)						
	0	4	7	14	21	28	35
Avl.vann 2 % i dest.v.+ salter	390 374	360	347	321	-	98.1	50.1

Evaluering av DOC-data

Døgn fra start	% DOC reduksjon etter x dager					
	4	7	14	21	28	35
DOC-reduksjon	6	9	16	-	74	87

Anm.: Oksygenbegrensning forårsaket nedsatt omsetning under 1. del av inkubasjonen. Kontinuerlig lufttilførsel under siste halvdel av inkub. 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, Örnköldsvik, 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: $20 \pm 1^\circ \text{C}$. Varighet: 28 dager.
pH: Start 7,6 Slutt: 7,6

Testperiode: 04.07 -01.08.1990

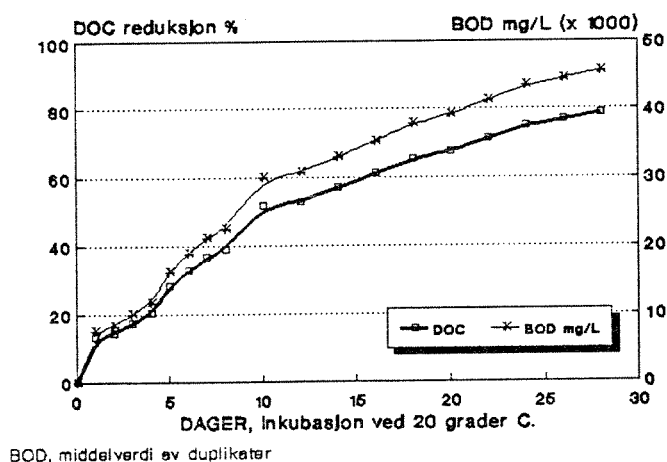
Testkonsentrasjon: 1:200 fortygning: 92.4 mg/L DOC

TOC-verdiene på MF-filtrerte prøver ved start (dag₀) og etter 28 dogn bio-nedbrytning er ikke korrigert for DOC₀ og DOC₂₈ i blank-prøve (inoculum).

RESULTATER: BOD₂₈ = 45 600 mg/L DOC-reduksjon = 79 %

	Analyser, mg/L			% DOC-reduksjon
	BOD ₂₈	DOC ₀	DOC ₂₈	
Testprøve (1:200)	228	92,4	19,7	79 %

BOD-utvikling:



BOD, middelverdi av duplikater

Kommentarer: Biooksidasjon viste en rask utvikling som ikke var stagnert etter 28 dogn inkubasjon. BOD₇ representerer 46 % av BOD₂₈.

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 9

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.

AOX (Adsorberbart organisk halogen)

Metoden baserer seg på adsorpsjon av organiske molekyler til aktivkull. Apparaturen som brukes er en Dohrmann DX-20 analysator. Prøvene filtreres og fortynnes om nødvendig. pH justeres til pH 2 med kons. HNO₃

50-100 ml prøve elueres gjennom to aktivkullkolonner koblet i serie (ca. 40 mg kull pr kolonne). Uorganisk klorid fjernes fra kullet ved KNO₃-vasking. Kullet forbrennes, og mengden organisk bundet halogen blir bestemt ved microcoulometrisk titrering med sølvioner.

Usikkerheten av resultatene er beregnet til ca. 3-4 %. Deteksjonsgrense: 1 µg AOX/l.

EOX (Ekstraherbart organisk halogen , klor, brom eller jod)

Vannprøven ble surgjort med vann (pH ca. 2) og ekstrahert to ganger med hexan. Hexanekstraktene ble kombinert og en eventuell emulsjon fjernet ved utsalting med natriumklorid. Ekstraktene ble vasket med surgjort vann (pH ca. 2) og tørket med natriumsulfat. Ekstraktet ble oppkonsentrert ved 40 °C med svakt vakuum og N₂-strøm til ca. 2-4 ml. EOX ble bestemt i en delmengde av ekstraktet ved nøytronaktivering (NAA). Nøytronaktiveringsanalysen ble utført på Institutt for Energiteknikk, Kjeller.

Deteksjonsgrensen for nøytronaktiveringsanalysen:

EOCl	10-20	µg/l	vannprøve
EOBr	1-2	"	"
EOJ	1-2	"	"

Övrige metoder

For øvrige metoder vises til refererte standarder og respektive appendix.

Norsk institutt for vannforskning  NIVA

Postboks 69, Korsvoll
0808 Oslo 8