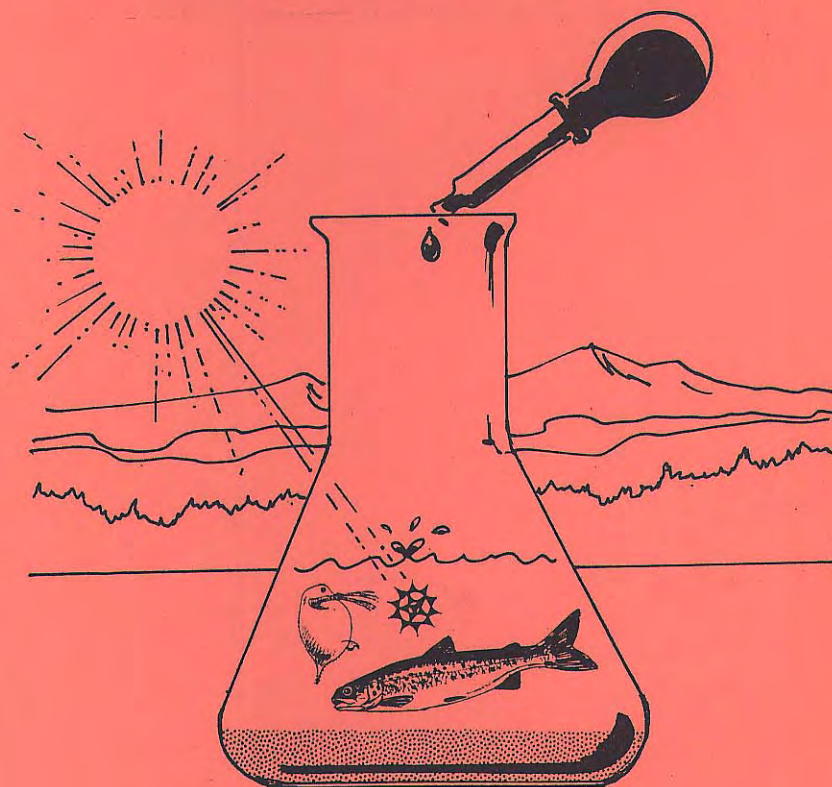




O-91063

Biologisk/kemisk karakterisering  
av avloppsvatten från  
**Fiskeby Board AB**



# NIVA - RAPPORT

Norsk institutt for vannforskning  NIVA

<b>Hovedkontor</b>	<b>Serielandavdelingen</b>	<b>Østlandavdelingen</b>	<b>Vestlandavdelingen</b>
Postboks 69, Korsvoll	Televeien 1	Rute 866	Breiviken 5
0808 Oslo 8	4890 Grimstad	2312 Ottestad	5035 Bergen - Sandviken
Telefon (47 2) 23 52 80	Telefon (47 41) 43 033	Telefon (47 65) 76 752	Telefon (47 5) 95 17 00
Telefax (47 2) 39 41 89	Telefax (47 41) 44 513	Telefax (47 65) 78 402	Telefax (47 5) 25 78 90

Prosjektnr.: O-91063
Undernummer:
Løpenummer: 2616
Begrenset distribusjon:

Rapportens tittel: Biologisk karakterisering av avløpsvatten från Fiskeby Board AB	Dato: 14.08.91
	Faggruppe: Analyse
Forfatter (e): Torsten Källqvist	Geografisk område: Sverige
	Antall sider:      Opplag: 38                      70

Oppdragsgiver: Fiskeby Board AB	Håkan Grangård Beställning 194369
------------------------------------	--------------------------------------

## Ekstrakt:

En prøve av avløpsvann fra treforedlingsbedriften Fiskeby Board AB er analysert for innhold av organiske forbindelser, nedbrytbarhet og giftighet overfor akvatiske organismer. Innholdet av organisk karbon var ca. 140 mg/l. COD var 600 mg/l og BOD<sub>7</sub> 234 mg/l. Ca. 90% av det organiske materialet ble omsatt i løpet av en 28 døgns nedbrytbarhetstest. Giftigheten var moderat. EC<sub>50</sub>-verdien for alger var 17%, og for Microtox 56%. Sebrafisk overlevde i full konsentrasjon i 4 døgn, men effekter på egg/ungel-utvikling ble registrert ned til 25%, men ikke ved 12% konsentrasjon.

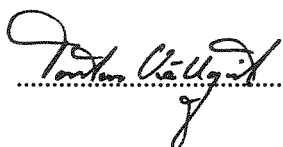
4 emneord, norske

1. Industriavløpsvann
2. Treforedling
3. Giftighetstester
4. Nedbrytbarhet

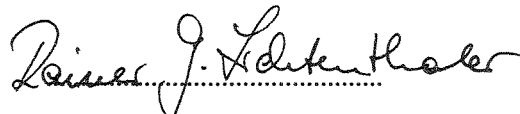
4 emneord, engelske

1. Industrial waste water
2. Pulp-and paper industry
3. Toxicity tests
4. Biodegradation tests

Prosjektleder

  
.....

For administrasjonen

  
.....

ISBN 82-577-1946-3

Norsk Institutt for Vannforskning NIVA

O-91063

Biologisk/kemisk karakterisering av avloppsvatten från

Fiskeby Board AB

Prosjektledare: Torsten Källqvist, NIVA  
Medarbeidere: Harry Efraimsen, NIVA  
Magne Grande, NIVA  
Sigbjørn Andersen, NIVA  
Randi Romstad, NIVA  
Berit Holestøl, SI  
Astrid Broch-Due, PFI

## FÖRORD

*Ångpanneföreningen-IPK, vände sig i april 1991 till NIVA med en förfrågan om genomföring av en kemisk biologisk karakterisering av avloppsvatten från Fiskeby Bruk AB i Norrköping. Karakteriseringen skulle omfatta samma tester och analyser som vid en tidigare undersökning utförd av IVL 1990.*

*Ett programförslag för karakteriseringen översändes och godkändes 18.4.91, och ett prov av avloppsvattnet mottogs på NIVA, Oslo 19.4.91.*

*Undersökningen av potentiellt bioackumulerbara ämnen har utförts på Senter for Industrieforskning (SI) av Berit Holestøl. Microtox-testerna har utförts vid Paririndustriens Forskningsinstitut (PFI) av Astrid Broch-Due. Övriga tester och analyser utfördes vid NIVA. Samtliga medverkande tackas för bidraget.*

*Oslo augusti 1991*

*Torsten Källqvist*

## INLEDNING

Fiskeby Bruk tillverkar kartong med vitt ytskikt, lämpat för högklassigt tryck, samt diverse laminat. Produktionen är returpapperbaserad och uppgår till ca. 100.000 ton per år.

Karakteriseringar av Fiskeby Boards avloppsvatten har tidigare genomförts av IVL under 1985, 1988 och 1990. Vid den senare undersökningen rapporterades problem med vissa av de biologiska testerna p.g.a. mikrobiologisk påväxt. Av denna anledning önskade man genomföra en förnyad karakterisering efter liknande uppläggning.

Ett prov av avloppsvattnet för karakteriseringen ankom NIVA 19/4 -91 i 3 st. 25 l plastkannor. En del av provet fördelades på 5 l polyeten-kannor och frystes för de tester/analyser som inte kunde genomföras omedelbart.

## PROGRAM FÖR KARAKTERISERINGEN

Karakteriseringen av avloppsvattnet före biologisk nedbrytning omfattade

### Kjemiska analyser

BOD <sub>7</sub>	SS028143
COD	SS028142
TOC	ASTRO mod. 2001
DOC	ASTRO mod. 2001

### Toxicitetstester

Microtox	Microtox (Beckman)
Zebrafisk akut 96 t	SS028162
Zebrafisk ägg/yngel	SS028193
Alger (Selenastrum)	ISO/DIS 8692

**Bioackumuleringstest** (tunnskikt-kromatografi, Renberg et al. 1980)

**Nedbrytbarhetstest** ISO 9408 och ISO 7827

Efter nedbrytningstesten utfördes en ny toxicitetstest med Microtox

## RESULTAT

### Kemisk karakterisering

Resultaten av den kemiska karakterisering av avloppsvattnet före nedbrytning redovisas i tabellen nedan.

BOD <sub>7</sub>	234	mg/l
COD	600	mg/l
TOC	143	mg/l
DOC	139	mg/l

### Toxicitet

Toxicitetstesterna av avloppsvattnet före nedbrytning gav följande resultat:

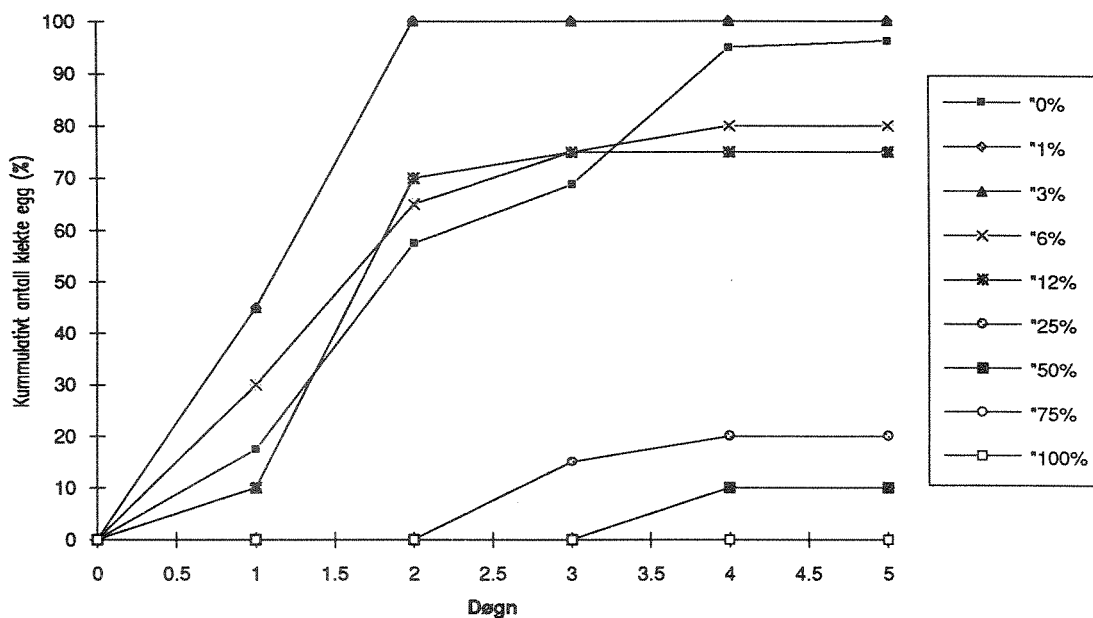
Microtox	EC <sub>50</sub> , luminiscens, 5 min.	%	56
Microtox	EC <sub>20</sub> , luminiscens, 5 min.	%	17
Microtox	EC <sub>50</sub> , luminiscens, 15 min.	%	53
Microtox	EC <sub>20</sub> , luminiscens, 15 min.	%	19
Selenastrum	LC <sub>50</sub> , växthastighet, 3 d.	%	17
Selenastrum	EC <sub>20</sub> , växthastighet, 3 d.	%	6.5
Selenastrum	EC <sub>10</sub> , växthastighet, 3 d.	%	3.1
Zebrafisk	LC <sub>50</sub> 4 d.	%	>100
Zebrafisk	LC <sub>20</sub> 4 d.	%	>100
Zebrafisk	NOEC, ägg yngeltest	%	12

Med EC<sub>50</sub> menas den koncentration av avloppsvattnet som ger 50% hämmande effekt på den undersökta responsen (t. ex. växthastighet). I testen med zebrafisk var responsen dödlighet (letalitet) och resultatet anges som LC<sub>50</sub>. Analogt med detta anger EC<sub>20</sub> och LC<sub>20</sub> de koncentrationer som ger 20% effekt, respektive dödlighet. NOEC (No Observed Effect Concentration) anger den högsta testade koncentrationen utan signifikant effekt.

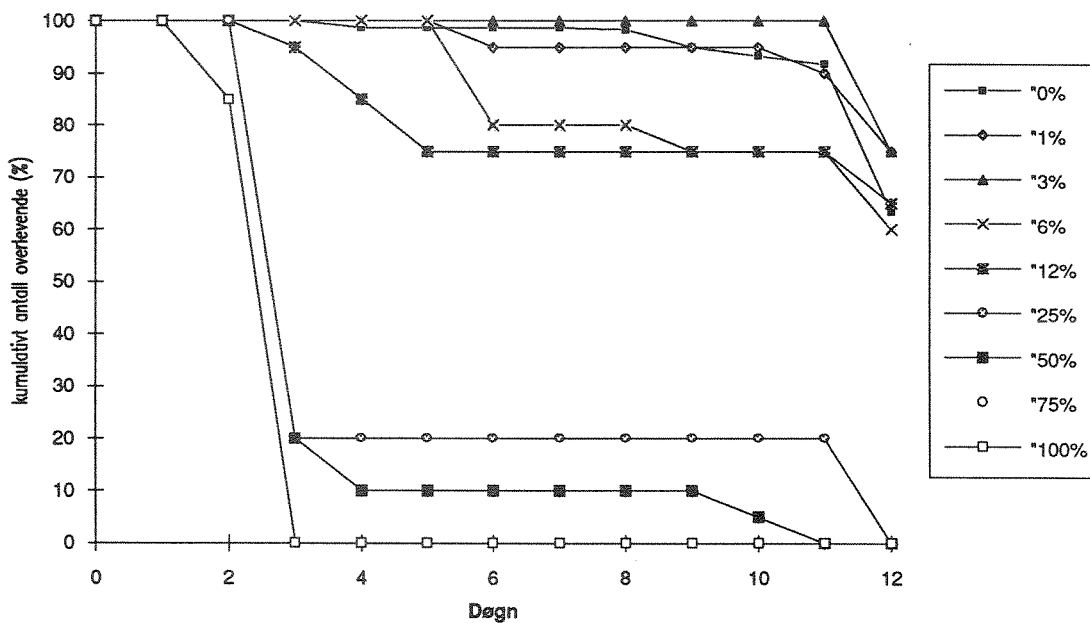
Toxicitetstesterna visade ingen akut toxicitet för zebrafisk. Ingen dödlighet registrerades vid full koncentration av avloppsvatten under 4 dygn, och fisken tycktes vara i god form när testen avslutades. (Se bilaga 3).

Vid ägg/yngeltesten med zebrafisk registrerades inga signifikanta effekter på kläckning och överlevnad upp till 12% koncentration (NOEC). Vid 25% kläcktes bara 20% av äggen inom 5 dygn och 80% av äggen/ynglen var döda efter 3 dygn. (Se figur 1 och 2). På de ägg som inte kläcktes utvecklades en vit hinna som bestod av bakterier och svamptrådar. Detta kan vara samma

fenomen som har rapporterats från tidigare tester av detta avloppsvatten, men effekten är troligen sekundär och indikerar att ägget har skadats. Se vidare bilaga 4.



Figur 1. Kumulativt antal kläckta ägg (%) vid olika exponeringstid. Kurvan för "0%" anger medelvärde för 4 kontroller.

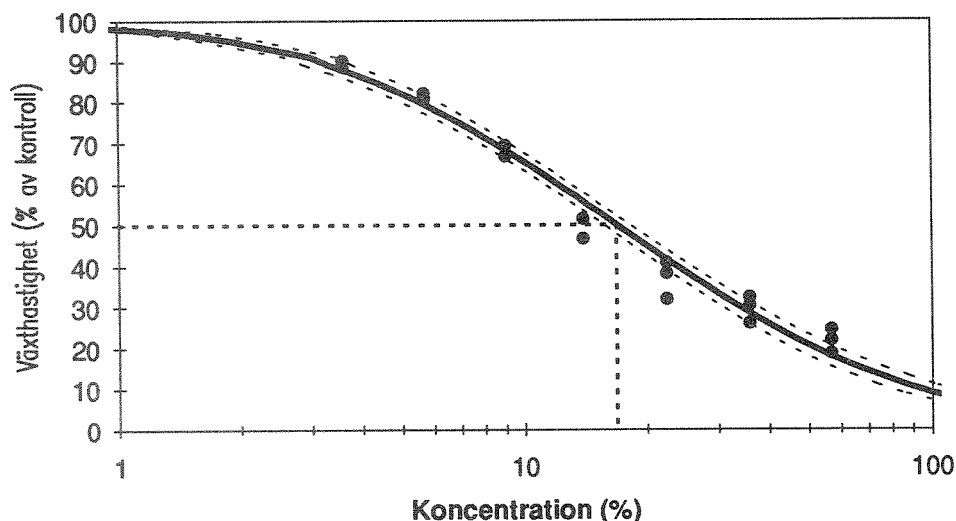


Figur 2. Kumulativt antal överlevande fiskar/ägg (%) vid olika exponeringstid. Kurvan för "0%" anger medelvärde för 4 kontroller.

Gift effekter på Microtox, d.v.s. hämning av ljusemission från bakterien *Photobacterium phosphoreum* påvisades vid koncentrationer över ca. 5 %.  $EC_{20}$ -värdet vid 15 minuters exponering var 19% och  $EC_{50}$ -värdet 53% (Se bilaga 1).

Algernas växthastighet reducerades något redan vid den lägsta testade koncentrationen, 3,6%, och 50% hämning ( $EC_{50}$ ) beräknades till 17% koncentration av avloppsvatten. (Se bilaga 2).

Avloppsvattnets effekt på algernas växthastighet framgår av figur 3.



Figur 3. Avloppsvattnets effekt på växthastigheten av *Selenastrum capricornutum*. Streckade kurvor visar konfidensintervall (95%) runt responskurvan.

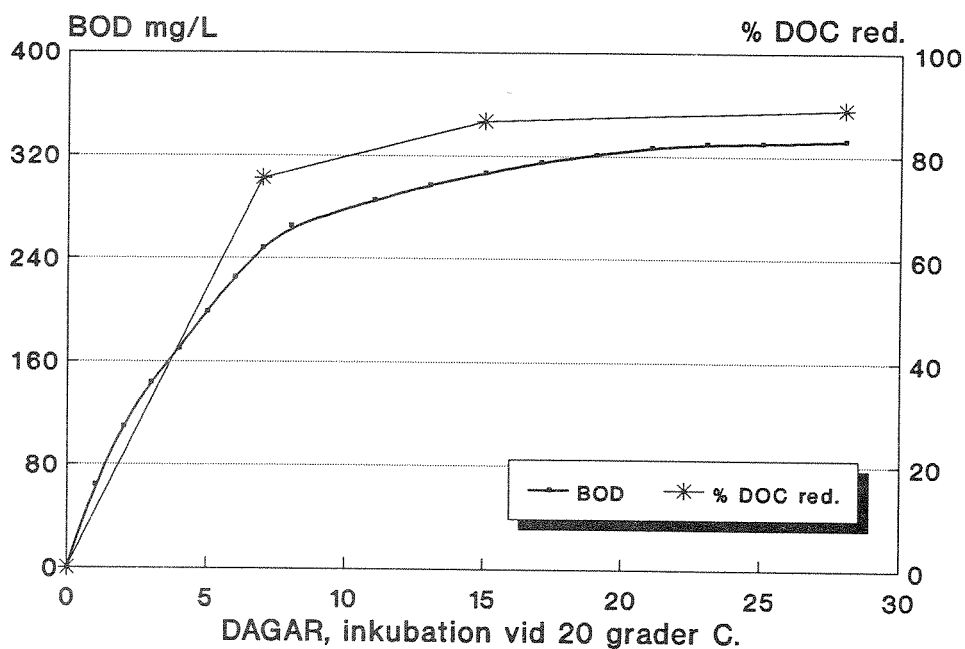
### Bioackumulerbarhet

Vid den tunnskikt-kromatografiska testen av potentiell bioackumulerbara substanser fraktioneras ett extrakt av avloppsvatten i fraktioner med olika lipofilitet. Lipofiliteten anges som fördelningskoefficient oktanol/vatten ( $P_{OW}$ ). Extraktet innehöll 1.7 mg/l. Det kunde inte påvisas potentiellt bioackumulerbara ämnen i någon av fraktionerna efter kromatografering. (Se bilaga 5).

### Nedbrytbarhet

Nedbrytbarheten undersöktes med två olika testsystem, dels i en sluten respirometer (ISO 9408) med spädning till 50% och dels i en öppen behållare (ISO 7827) med spädning till 50% och 25%. Testerna visade att huvuddelen av det lösta organiska materialet omsätts snabbt. Långtids BOD (28 dygn) var 330 mg/l. 90% av syreförbrukningen skedde inom 14 dagar. Förhållandet  $BOD_{28}/COD$  var 55%. Reduktionen av DOC efter 28 dygn var 89% i bägge testerna. Syreförbrukningsförloppet och DOC-reduktionen i respirometer-testen visas i figur 4. Ytterligare dokumentation återfinns i bilaga 6.





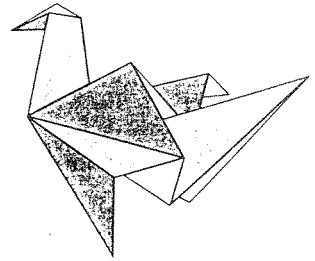
Figur 4. Förlopp av syreförbrukning och DOC vid nedbrytbarhetstesten (ISO 9408)

#### Toxicitet efter nedbrytning

Eftersom avloppsvattnet späddes 1:1 vid nedbrytbarhetstesten och ytterligare spädning måste göras vid testen, kunde koncentrationer över 23% inte testas på Microtox. Vid denna koncentration hade avloppsvattnet ingen gifteffekt på Microtox-systemet. Vid motsvarande koncentration av avloppsvatten före nedbrytning var hämningen ca. 40%. Det innebär att gifteffekten hade reducerats vid nedbrytningen.

## BILAGA 1

### Toxicitet - Microtox



NIVA  
Postboks 69 Korsvoll  
0808 OSLO 8

Att.: Torstein Kallqvist

Vinderen 91.06.11  
29303/abd

## MICROTOXTEST AV VANNPRØVER

### Prøver:

Tirsdag 4. juni 1991 mottok vi via SI (Berit Holestøl) 2 stk. vannprøver for Microtox-testing:

Flaskene hadde følgende merking:

- Fiskeby 19.04.19
- 91063 gf/c-filtr. etter 28 d nedbrytning

### Testmetode:

Prøvene er testet for toksisitet v.h.a. Mikrottox.

Testen er utført etter "Microtox Standard-metode og Microtox 100%-metode slik de står beskrevet i Microtoxmanualen "How to run toxicity tests using the Microtox Model 500", Microbics Corporation, Carlsbad, California, USA.

Benyttet referansesubstans:  $ZnSO_4 \cdot 7H_2O$

### Forbehandling av prøvene:

pH i prøvene ble justert til 7.0 og sentrifugert før testing.

**Resultat:**

Prøve	EC50 <sub>5 min</sub> vol%	EC50 <sub>15 min</sub> vol%	Metode
Fiskeby 19.04.91	56.3 (39.6-80.0)	52.8 (37.5-74.5)	Std.
Fiskeby 19.04.91	57.4 (37.9-86.7)	60.5 (41.0-81.2)	100%
91063 gf/c	Denne prøven er ikke toksisk i Microtox-systemet. Reduksjon i lysintensiteten i fortynninger opp til 45.5 vol% er som for blindprøven.		

Referansesubstans: EC50<sub>15 min</sub>=6.6 mg/liter ( 6.0-7.1)

Tallene i parentes angir 95% konfidensintervall

Det gjøres oppmerksom på at utførelse etter 100%-metoden innehar større usikkerhet enn Standardmetoden.

Med hilsen

Papirindustriens Forskningsinstitutt

*Astrid Broch-Due*

Astrid Broch-Due

4 vedlegg

MICROTOX(®) DATA SHEET

LE NAME: niva09 05

REPORT DATE: 06-07-1991 00:17:53

Sample Description: "Fishery 18.04.91, pH gustect til 7.0, 7.juni 1991. abd"

Lot: 1000000000

Number of Dilutions: 4

Sample Volume: 100 µl

Sample Volume: 100 µl

Microtox(®) 7045

Microtox(®) 7045

Time	Fluorescence	Light	Stress	Stress
5.688	91.0/ 86.0	0.077	0.077	
11.375	91.0/ 62.0	0.147	0.159	
23.750	92.0/ 54.0	0.231	0.351	
45.500	89.0/ 38.0	0.830	0.777	

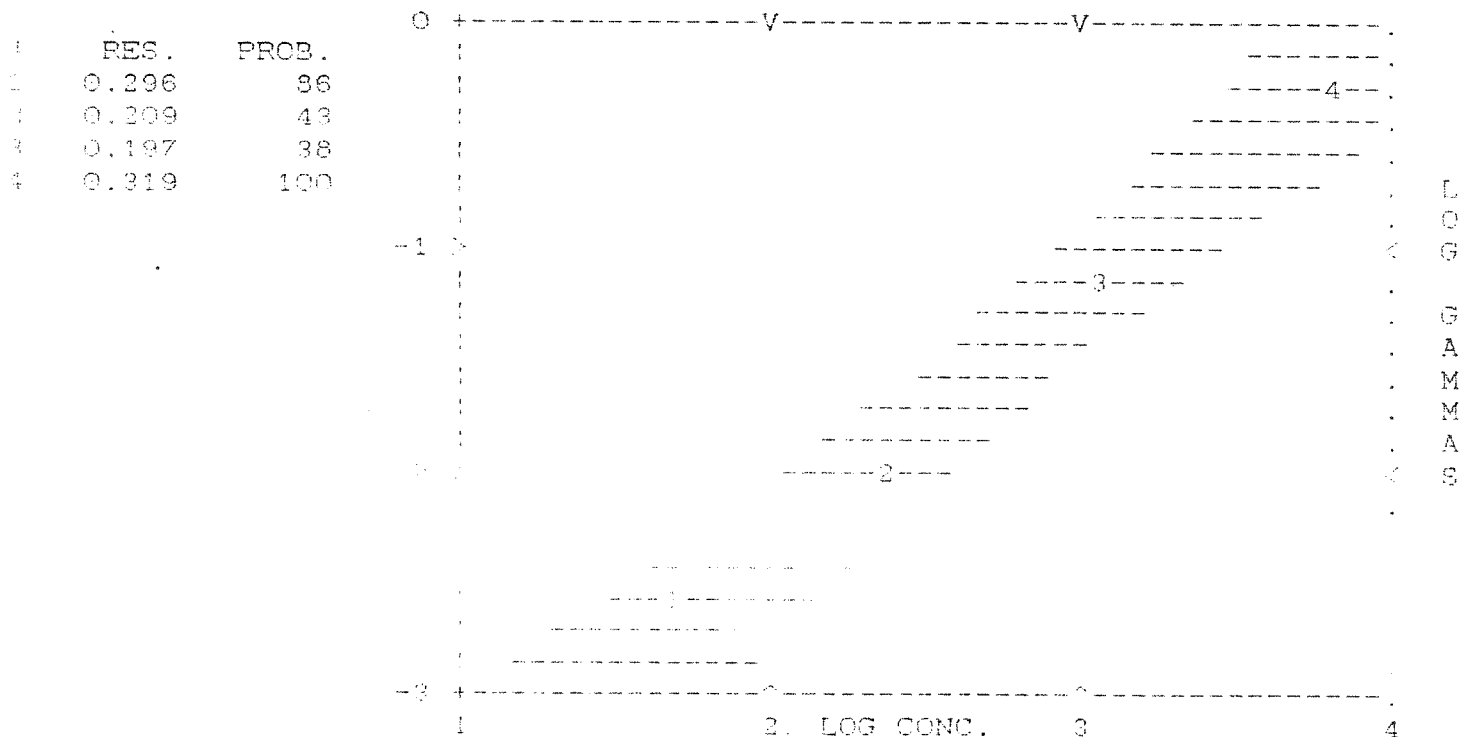
ANK Bo/Bt= 96 / 75

ANK RATIO= 0.7813

7.50 = 56.286 ( 39.614 TO 79.974 )

7.20 = 16.903 ( 14.051 TO 20.334 )

r=0.99694 SLOPE = 0.8677 INTERCEPT = +4.0304



MICROTOX(P) DATA SHEET

FILE NAME: 01V989.017

REPORT DATE: 06-07-1991 00:00:27

Sample Description : "Fiskeby 10.04.91, pH justert til 7.0, 7. juni 1991, abd"  
 Procedure : STANDARD  
 Number of Dilutions : 4  
 Dilution Factor : 2

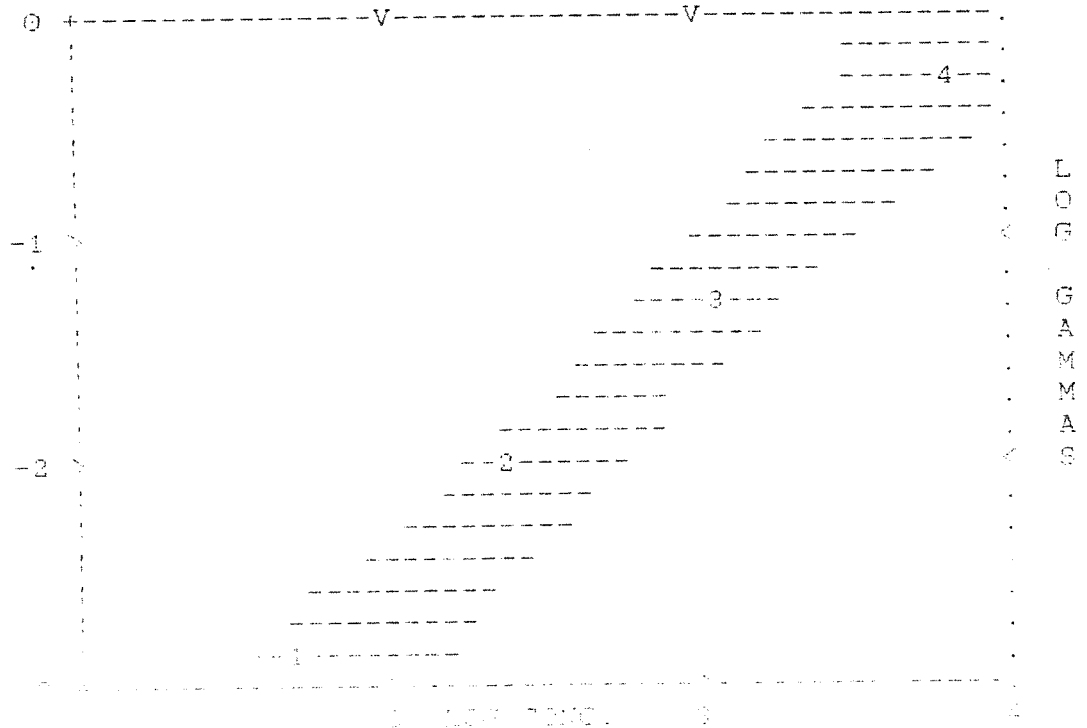
Time	Count	Count	Count	Count
5.583	91.0/ 58.0	91.0/ 58.0	91.0/ 58.0	91.0/ 58.0
11.375	91.0/ 53.0	91.0/ 53.0	91.0/ 53.0	91.0/ 53.0
22.750	92.0/ 47.0	92.0/ 47.0	92.0/ 47.0	92.0/ 47.0
45.500	89.0/ 33.0	89.0/ 33.0	89.0/ 33.0	89.0/ 33.0

ANK Ba/Bt= 96 / 64  
 ANK RATIO= 0.6667

50 = 52.819 ( 37.455 TO 74.483 )  
 20 = 18.935 ( 15.636 TO 22.929 )

R=0.99684 SLOPE = 0.7400 INTERCEPT = +3.9669

RES.	PROB.
0.324	100
0.198	37
0.202	39
0.311	92



MICROTOX is a Registered Trademark of Microbiologic ApS

MICROTOX(r) DATA SHEET

FILE NAME: nival10.05

REPORT DATE: 06-07-1991 00:01:18

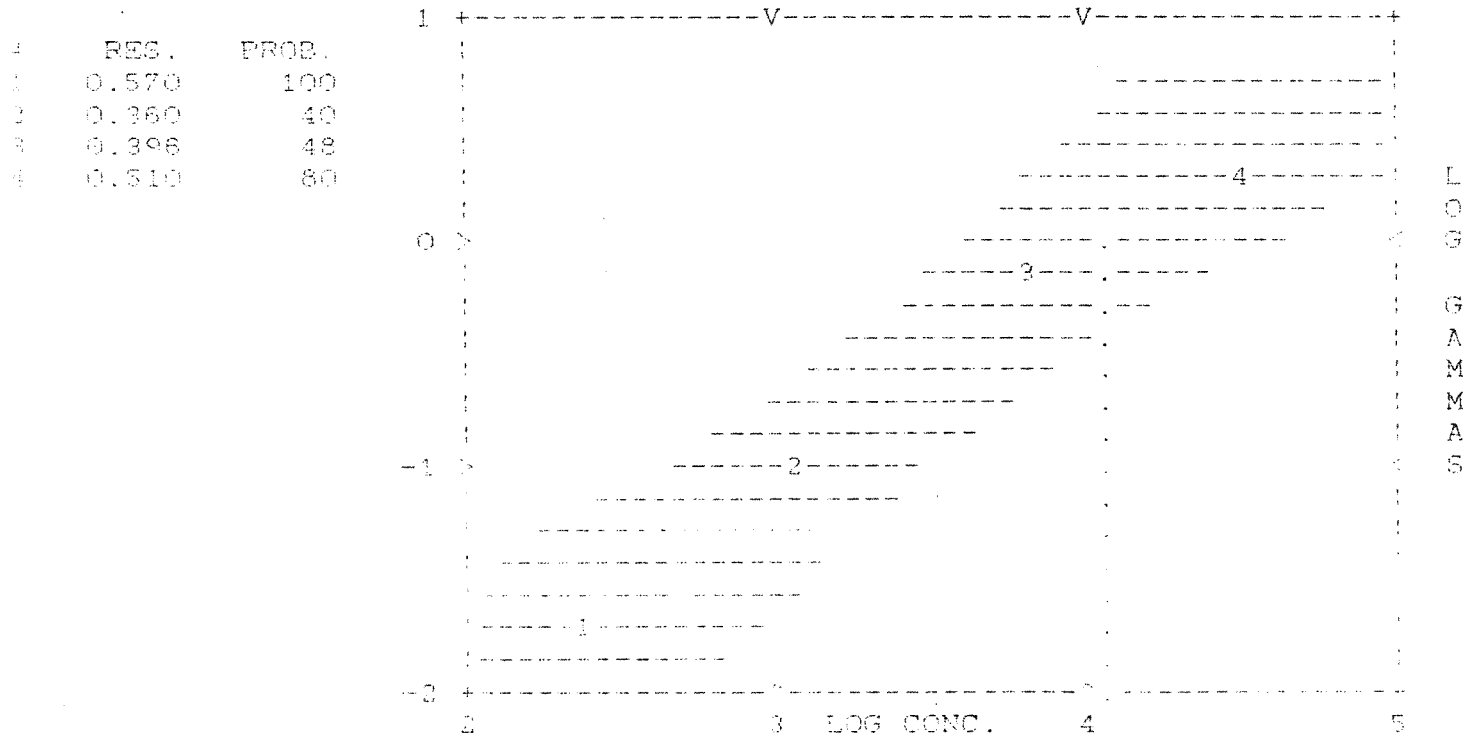
Sample Description : "fishbait 10.04.31, pH adjust to 7.0, 7. June 91, and"  
 Procedure : 100 %-prosedyre Number of Dilutions : 4  
 Initial Concentration : 90.9 % Dilution Factor : 2  
 Inoc Adjustment : MOAS Assay Time : 5

PL #	CONC.	Io/It	G-GBS	G-EST
1	11.363	96.0/ 60.0	0.196	0.208
2	22.725	31.0/ 43.0	0.408	0.405
3	45.450	88.0/ 34.0	0.934	0.790
4	90.900	89.0/ 23.0	1.376	1.541

BLANK Bo/Bt= 95 / 71  
 BLANK RATIO= 0.7474

50 = 57.354 ( 37.927 TO 86.733 )  
 20 = 13.992 ( 8.600 TO 22.765 )

r=0.99015 SLOPE = 1.0177 INTERCEPT = +4.0492



MICROTOX(r) DATA SHEET

PLATE NAME: niva10.015

REPORT DATE: 06-07-1991 00:00:41

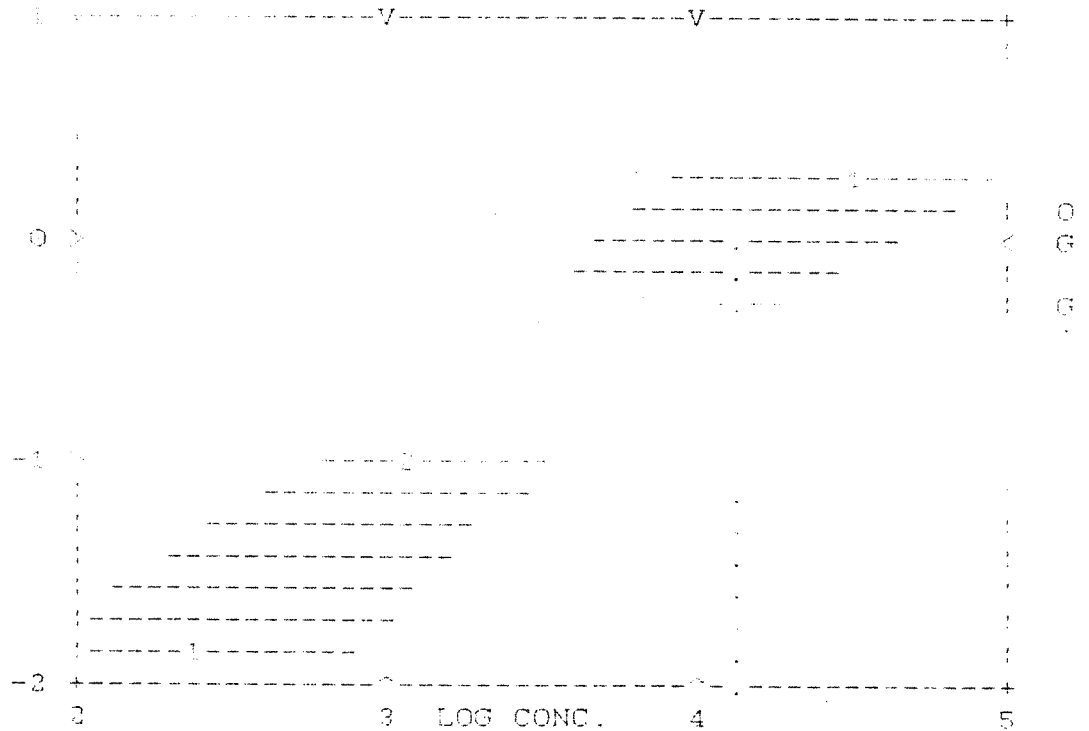
Sample Description : "fiskeby19.04.91, pH justert til 7.0, 7. juni 91, abd"  
 Procedure : 100 %-prosedyre Number of Dilutions : 4  
 Initial Concentration : 90.9 % Dilution Factor : 2  
 Mic Adjustment : MOAS Assay Time : 15

L #	CONC.	Io/It	G-OBS	G-EST
1	11.353	96.0/ 53.0	0.166	0.180
2	22.725	81.0/ 37.0	0.383	0.365
3	45.450	83.0/ 30.0	0.853	0.739
4	90.900	89.0/ 24.0	1.342	1.500

BANK Bo/Bt= 95 / 60  
 BANK RATIO= 0.6316

150 = 60.464 ( 40.970 TO 89.233 )  
 120 = 15.883 ( 10.563 TO 23.882 )

R=0.99184 SLOPE = 0.9643 INTERCEPT = +4.1020





MICROTOX(r) DATA SHEET

FILE NAME: niva06.05

REPORT DATE: 06-06-1991 00:31:01

Sample Description : "gf/c, ph justert til 7.0 91.06.05 r.aa."  
 Procedure : ~~STANDARD~~ 100% Number of Dilutions : 3  
 Initial Concentration : 91 % Dilution Factor : 2  
 Ionic Adjustment : MOAS Assay Time : 5

DIL #	CONC.	Io/It	$\Delta I$	G-OBS	G-EST
1	11.875	85.0/ 86.0	19	0.057	0.051
2	22.750	83.0/ 86.0	17	0.033	0.041
3	45.500	82.0/ 85.0	17	0.036	0.032
BLANK Bo/Bt= 95 / 76			17		
BLANK RATIO= 0.8211					

MICROTOX(r) DATA SHEET

FILE NAME: niva06.015

REPORT DATE: 06-06-1991 00:31:20

Sample Description : "gf/c, ph justert til 7.0 91.06.05 r.aa."  
 Procedure : STANDARD Number of Dilutions : 4  
 Initial Concentration : 91 % Dilution Factor : 2  
 Ionic Adjustment : MOAS Assay Time : 15

DIL #	CONC.	Io/It	$\Delta I$	G-OBS
1	11.875	85.0/ 87.0	18	0.033
2	22.750	83.0/ 86.0	15	0.025
3	45.500	82.0/ 87.0	15	0.021
BLANK SAMPLE 95 / 71			23	
BLANK RATIO= 0.7559				

MICROTOX(r) DATA SHEET

TEST NAME: ms05.015

REPORT DATE: 06-08-1991 00:16:45

Sample Description : "znso4 \*7 h2o 30 mg/l"

Procedure : standard

Number of Dilutions : 4

Initial Concentration : 13.64 mg/l

Dilution Factor : 2

Micro Adjustment : MOAS

Assay Time : 15

L #	CONC.	Lo/Hi	G-OBS	G-EST
1	1.705	82.0/ 81.0	0.049	0.052
2	3.410	85.0/ 52.0	0.260	0.237
3	6.820	92.0/ 34.0	1.086	1.079
4	13.640	82.0/ 11.0	4.746	4.915

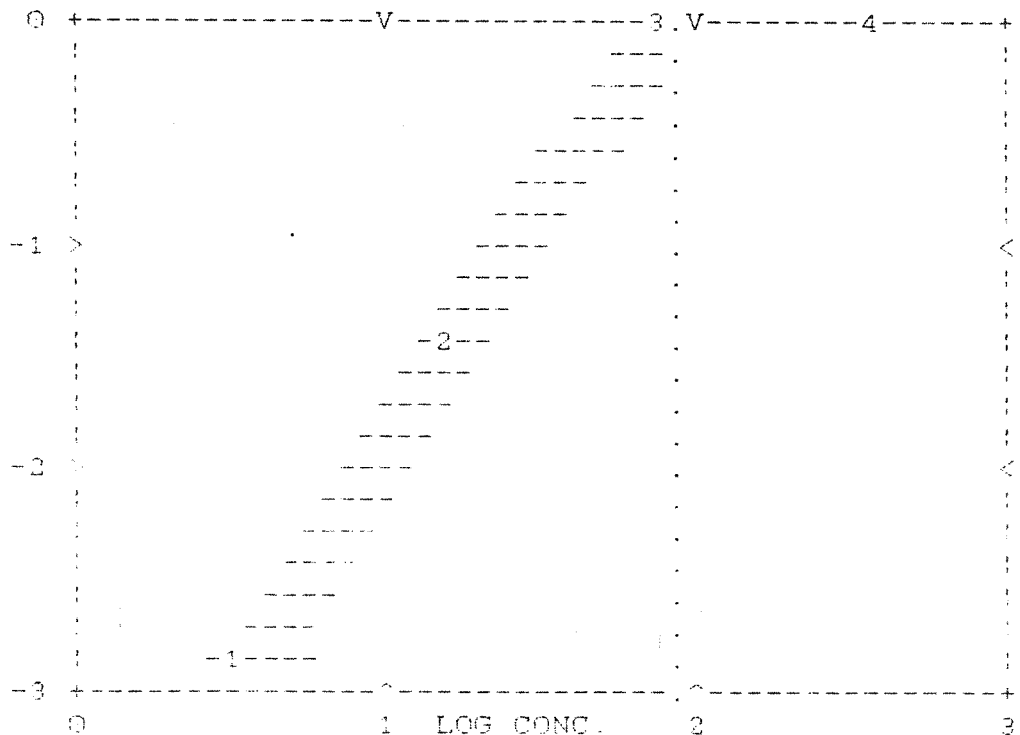
BLANK Bo/Bt= 96 / 74

BLANK RATIO= 0.7708

1.50 = 6.584 ( 6.027 TO 7.191 )  
 1.20 = 3.495 ( 3.199 TO 3.820 )

r = 0.99940 SLOPE = 0.4567 INTERCEPT = +1.8846

#	RES.	PROB.
1	0.140	100
2	0.088	40
3	0.090	41
4	0.136	95



**BILAGA 2**

**Toxicitet - Slenastrum capricornutum**

Norsk institutt for vannforskning NIVA

## Testrapport

### Toksisitetstest med alger, ISO 8692, OECD 201

**Teststoff:** Avløpsvann fra Fiskeby Board, april 1991

#### Test data

Organisme:	<i>Selenastrum capricornutum</i> NIVA CHL1
Testparameter:	Veksthastighet fra start til 72 timer
Stamkultur:	Semikontinuerlig i 10% Z8 vekstmedium (Staub 1961)
Start dato:	1.5.91
Konsentrasjoner:	3.6, 5.7, 9, 14, 22.5, 36, 57, 90 %
Test medium:	ISO 8692
Inkuberingsutstyr:	Gyngbord
Dyrkingsflasker:	100 ml ståkolber med 50 ml medium
Lys:	70 $\mu\text{E m}^2 \text{s}^{-1}$ , kontinuerlig fra dagslys-type lysstoffrør
Temperatur:	20 °C
pH	Start : 7.0 ( kontroll), 7.15 (90% kons.). Etter 72 tim.: 7.15 (kontroll), 7.19 (90% kons.)
Vekstmåling:	Partikkel telling med Coulter Multisizer
Beregning av $\text{EC}_{50}$ *	Probit transformering og lineær regressjon av probit verdier mot log konsentrasjon.
Beregning av NOEC *	t-test

#### Resultater

Celletetthet på hvert målepunkt, den beregnede areal under vekstkurve og veksthastighet i hver kolbe er vist på vedlagt skjema. Middeler verdier for kontroller og ved ulike konsentrasjoner av teststoff er listet lengst ned på å skjemaet. Vekstkurver for hver konsentrasjon av teststoffet er vist i figur 1. Konsentrasjon/responskurven er vist i figur 2.

Parameter	Enhet	$\text{EC}_{50}$	95% konf. int.	$\text{EC}_{10}$	95% konf. int.	NOEC
Veksthastighet	% kons.	17	15.7 - 18.2	3.1	2.7 - 3.6	<3.6
Areal	% kons.	3.8	3.5 - 4.1	1.1	0.9 - 1.3	<<3.6

Ansvarlig for testen: Torsten Källqvist

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

\* NOEC = Høyeste testede konsentrasjon uten signifikant effekt

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

Norsk institutt for vannforskning NIVA

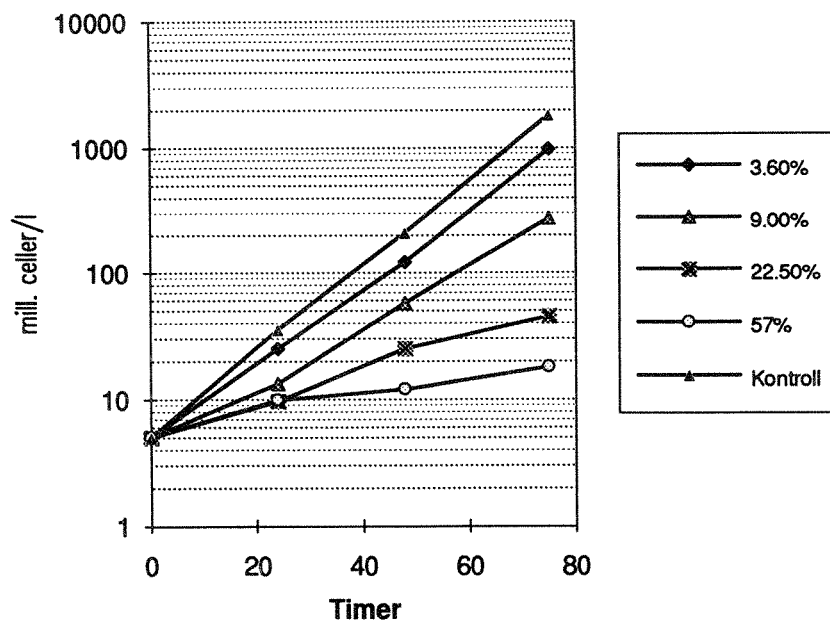


Fig. 1. Vekstkurver for *Selenastrum capricornutum* i ulike konsentrasjoner av avløpsvann fra Fiskeby Bruk.

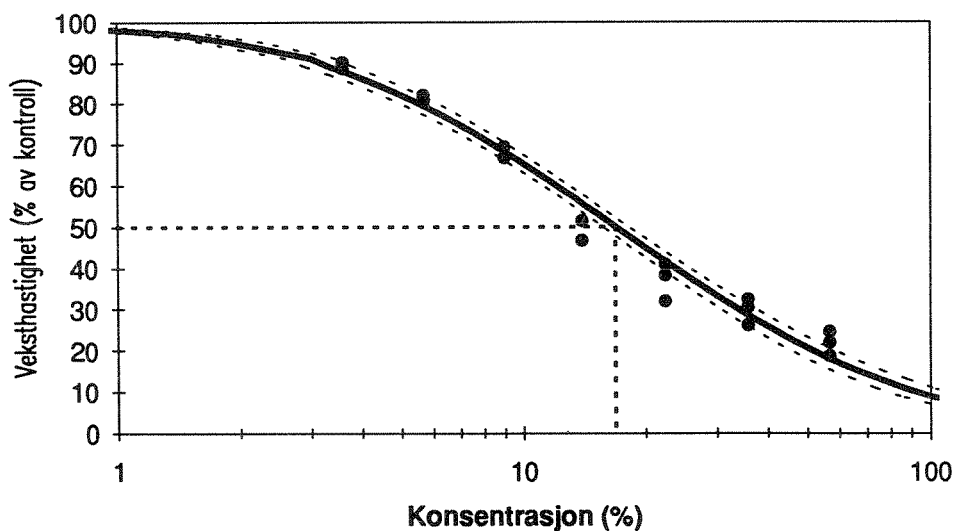


Fig. 2. Effekt av avløpsvann på veksthastigheten til *Selenastrum capricornutum*. Den heltrukne linien viser konsentrasjon/responskurven med 95% konfidensintervall (streakede linier).

TEST:&gt;&gt; ISO 8692 Algal toxicity test

Dato&gt;&gt;&gt; 1.5.91

TESTSTOFF&gt;&gt;&gt;&gt; Avløpsvann fra Fiskeby Board, april 1991.

TESTALGE>>>>> *Selenastrum capricornutum*

Medium ISO

INOKULUM&gt;&gt;&gt;&gt;&gt; 5 mill. celler/l

Timer:		Dag 1	Dag 2	Dag 3	Areal	Areal %	V. hast.	V. hast %
		24 mill/l	48 mill/l	75 mill./l				
Kons. 1	3.60%	25	118	1008	16902	55	1.70	90
		25	124	993	16853	55	1.69	90
		25	124	929	15989	52	1.67	89
Kons. 2	5.70%	19	73	625	10440	34	1.55	82
		17	83	575	9972	33	1.52	80
		17	81	605	10326	34	1.53	81
Kons. 3	9.00%	14	57	260	4985	16	1.26	67
		14	55	258	4907	16	1.26	67
		12	60	298	5526	18	1.31	69
Kons. 4	14%	11	46	103	2513	8	0.97	51
		11	51	104	2654	9	0.97	51
		8.3	30	78	1702	6	0.88	47
Kons. 5	22.50%	8.7	22	33	900	3	0.60	32
		10.4	27	47	1258	4	0.72	38
		9.9	26	56	1342	4	0.77	41
Kons. 6	36%	9.9	18	30	787	3	0.57	30
		9.9	16	34	790	3	0.61	32
		9.1	14	23	571	2	0.49	26
Kons. 7	57%	9.5	11	15	396	1	0.35	19
		10	11	21	489	2	0.46	24
		10.2	14	18	530	2	0.41	22
Kontroll		36	198	1673	28184	92	1.86	99
		36	206	1636	27888	91	1.85	98
		37	206	2000	32826	107	1.92	102
		34	200	1879	30968	101	1.90	101
		33	220	1844	30981	101	1.89	100
		37	220	1943	32414	106	1.91	101

## MIDDELVERDIER

0.04 Mv:	25.00	122.00	976.67	16581	54.29	1.69	89.40
St. d.	0.00	2.83	34.26	419	1.37	0.01	0.60
0.06 Mv.	17.67	79.00	601.67	10246	33.55	1.53	81.19
St. d.	0.94	4.32	20.55	199	0.65	0.01	0.58
0.09 Mv.	13.33	57.33	272.00	5139	16.83	1.28	67.70
St. d.	0.94	2.05	18.40	275	0.90	0.02	1.12
0.14 Mv.	10.10	42.33	95.00	2289	7.50	0.94	49.76
St. d.	1.27	8.96	12.03	419	1.37	0.04	2.26
0.23 Mv.	9.67	25.00	45.33	1167	3.82	0.70	36.97
St. d.	0.71	2.16	9.46	191	0.63	0.07	3.73
0.36 Mv.	9.63	16.00	29.00	716	2.34	0.56	29.58
St. d.	0.38	1.63	4.55	102	0.34	0.05	2.76
0.57 Mv.	9.90	12.00	18.00	472	1.54	0.41	21.55
St. d.	0.29	1.41	2.45	56	0.18	0.04	2.33
Kontroll Mv.	35.50	208.33	1829.17	30543	100.00	1.89	100.00
St. d.	1.50	8.75	133.26	1902	6.23	0.02	1.25

## BILAGA 3

### Akut toxicitet - Zebrafisk

# Norsk Institutt for vannforskning NIVA

## Akutt toksisitet, sebrafisk

### Testmetode

Testen er utført i overensstemmelse med Norsk Standard NS 4757 som er identisk med Svensk Standard SS 028162, 1981: "Bestämning av kemiska produkters akuta toxicitet för sötvattenfisk, Semistatisk metod".

### Testorganisme

Sebrafisk (*Brachydanio rerio*) i lenger på 30 +/- 3 mm ble benyttet som testorganisme. Fisken var innkjøpt fra akvarieforretning og oppbevart i laboratoriet i en periode på mer enn 14 dager før forsøket startet.

### Utførelse

Forsøket ble bare utført som "preliminært prov" i glassakvarier med 5 l testløsning og 5 fisk. Testløsningen ble luftet lett i forsøksperioden som var 4 døgn. Løsningen ble skiftet hvert døgn. Fisken ble observert flere ganger daglig. Temperaturen under forsøket varierte mellom 24.6 og 21 °C. En kontrolltest med vann uten innblanding av avløpsvann ble utført samtidig.

### Resultater

Det oppsto ingen dødelighet hverken i kontrollen eller i ufortynnet avløpsvann i løpet av testperioden. Fisken var tilsynelatende i god form ved forsøkets avslutning. Avløpsvannet viste således ingen akutt giftighet overfor sebrafisk.

Ansvarig for testen: Magne Grande



## BILAGA 4

Toxicitet på ägg och yngel av zebrafisk

# Norsk Institutt for vannforskning NIVA

## Toksisitet for egg og yngel av sebrafisk

### Testmetode

Testen er utført i overensstemmelse med Norsk Standard, NS 4663; "Bestemmelse av toksisitet for egg og yngel av ferskvannsfisk, semistatisk metode". Denne standard er identisk med Svensk Standard SS 028193-1988: "Bestämning av toxicitet för embryoner och yngel av sötvattensfisk, semistatisk metod".

### Testorganisme

Det ble benyttet sebrafisk (*Brachydanio rerio*) innkjøpt i akvarieforretning. Fisken ble holdt i laboratoriet ca. 2 måneder før forsøkets start. Produksjon av egg ble foretatt i overensstemmelse med NS 4663, Bilag A.

### Utførelse

Forsøkene ble utført som angitt i standarden. Sebrafisken som ble satt til lek (gyting) om kvelden gytt morgen etter i tidsrommet 7<sup>30</sup>-8<sup>30</sup>. 30 egg ble lagt i 50 ml petriskåler med forskjellige konsentrasjoner av avløpsvann. Etter et døgn ble de døde eggene plukket ut slik at det ble 20 egg igjen i hver petriskål. Egg og yngel ble observert daglig inntil alle var klekket og yngelen begynte å dø i større omfang etter ca. 12 døgn. Forsøkene ble da avsluttet. Egg og yngel ble hvert døgn flyttet over til skåler med ny løsning. Temperaturen under forsøkene varierte fra 25-27 °C, med et enkelt fall i temperaturen en dag til 23 °C. Dette hadde tilsynelatende ingen effekt på resultatene. pH, oksygen i løsningene samt dødelighet av nylagte egg var for øvrig innenfor de rammer som standarden forutsetter.

### Resultater

Resultatene fremgår av tabell 1-3 og figur 1-3.

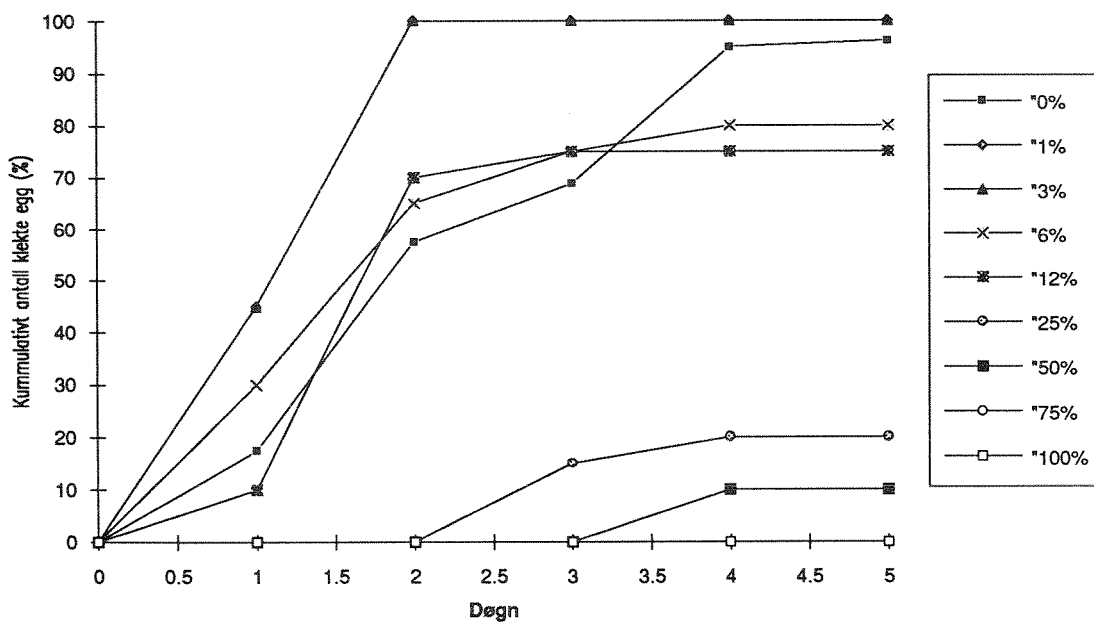
Det ble registrert forholdsvis stor forskjell i klekkingstid i de 4 kontroll-løsningene. I tre av disse var imidlertid klekkingen 100% etter 4 døgn, og middelveidien for alle kontrollene var 95%.

Klekkingen ble sterkt påvirket av avløpsvann i konsentrasjoner ned til 25%. Effekten besto i at eggene ble dekket av et hvitt lag som besto av sopp og bakterier. Dette var sannsynligvis en sekundæreffekt som følge av beskadigelse av egginnen. Dette resulterte i at eggene ikke klekket. Overlevingen var da også bare 20% eller mindre i disse konsentrasjonene. I 12% konsentrasjon og lavere var det ikke signifikante effekter hverken på klekketidspunkt eller overleving. Høyeste konsentrasjon uten signifikante effekter (NOEC) var således 12% (120 ml avløpsvann/l).

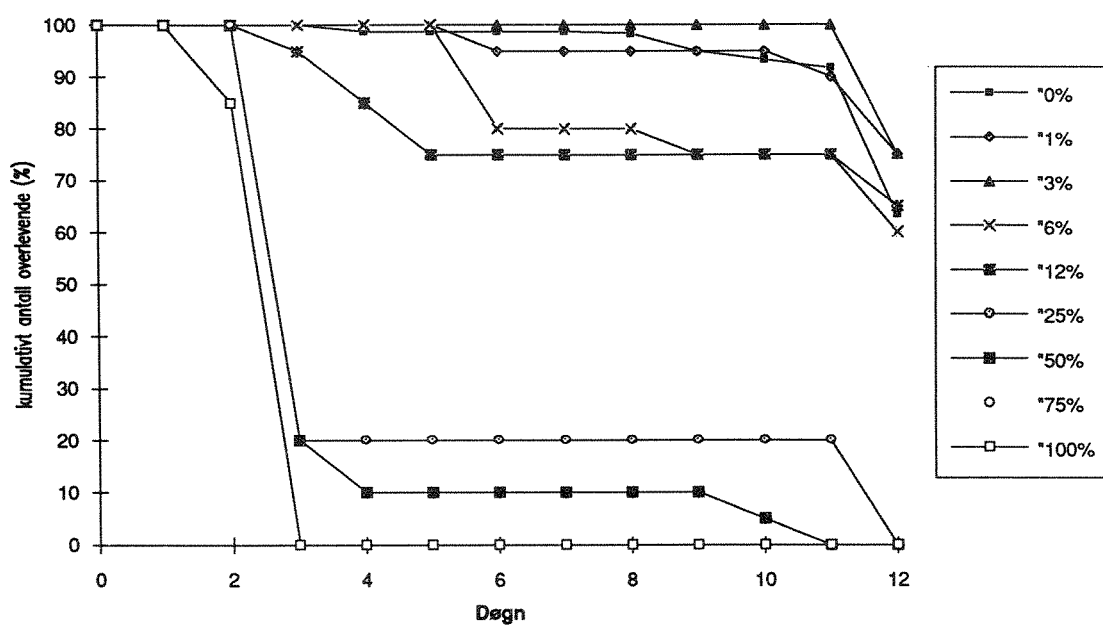


Tabell 3. Mediane klekke-og overlevelsesperioder (døgn) ved ulike konsentrasjoner (%) av avløpsvann

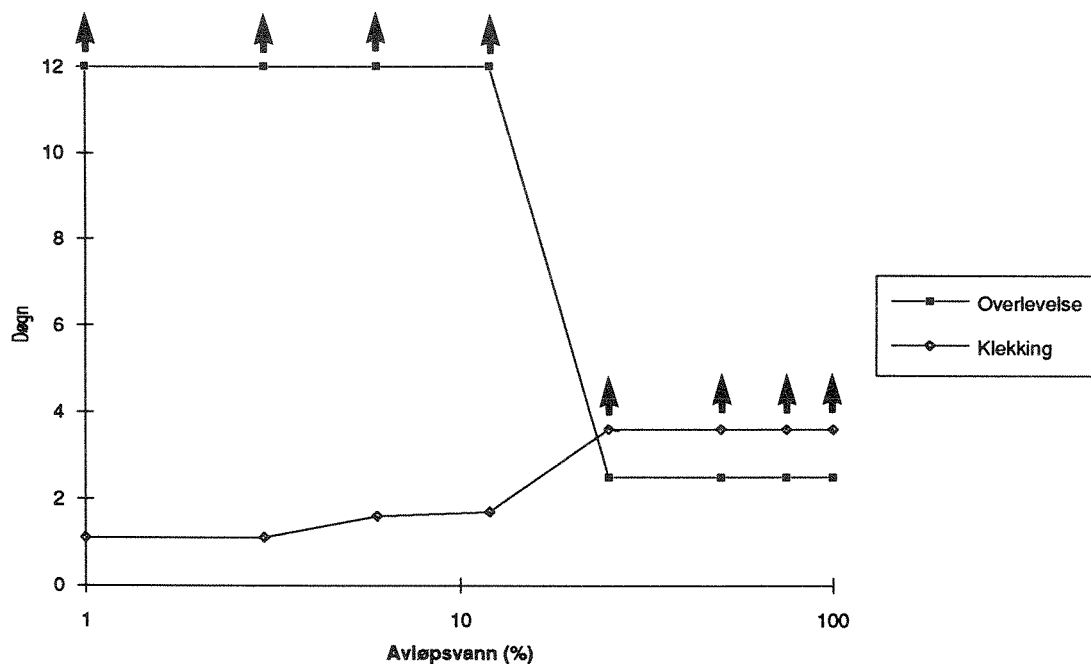
Avløpsvann %	Median klekkesetid døgn	Median overlevelsestid døgn
0	0.75	>12
0	3.2	>12
0	3.4	>12
0	1.5	>12
1	1.1	>12
3	1.1	>12
6	1.6	>12
12	1.7	>12
25	>4	2.5
50	>4	2.5
75	>4	2.5
100	>4	2.5



Figur 1. Kumulativt antall klekte egg (%) ved forskjellig eksponeringstid. Kurven for "0%" angir middelverdien for 4 kontroller.



Figur 2. Kumulativt antall overlevende fisk/egg (%) ved forskjellig eksponeringstid. Kurven for "0%" angir middelverdien for 4 kontroller.



Figur 3. Tid for 50% overlevelse og klekking av sebrafisk som funksjon av konsentrasjon av avløpsvann.

## **BILAGA 5**

### **Potentiell bioackumulerbarhet**

NIVA  
v/T.Källqvist  
Postboks 69 Korsvoll  
0808 Oslo 8

NORSK INSTITUTT FOR VANNFORSKNING	
J. nr.:	1600/91
Sak nr.:	90114
Mottatt:	22.5

**SI** **SENTER FOR  
INDUSTRIFORSKNING**  
Center for Industrial Research

## Rapport

Deres ref.

Vår ref.  
Berit Holestøl

Direkte innvalg  
452824

Dato  
15.05-91

Oppdragets tittel

**BESTEMMELSE AV POTENSIELT BIOAKKUMULERBART  
MATERIALE I EN VANNPRØVE.**

Oppdrag nr  
114401-045  
1-91-048

Den 22.04.91 ble det mottatt en frosset prøve merket "Fiskeby 19.04-91". Potensielt bioakkumulerbart materiale skulle bestemmes med tynnsjikt-kromatografi og gasskromatografisk analyse med flammejonisasjonsdetektor (FID).

ANALYSEMETODE (se vedlegg)

### RESULTAT

Ekstrakt	fraksjonering	Applikasjonssone	$\log P_{ow} > 10^5$	$\log P_{ow} > 10^3-10^5$
	Før TLC	Fraksj.1	Fraksj.2	Fraksj.3
surt	1.7 mg/l	i.p.*	i.p.*	i.p.*

\* ikke påvist

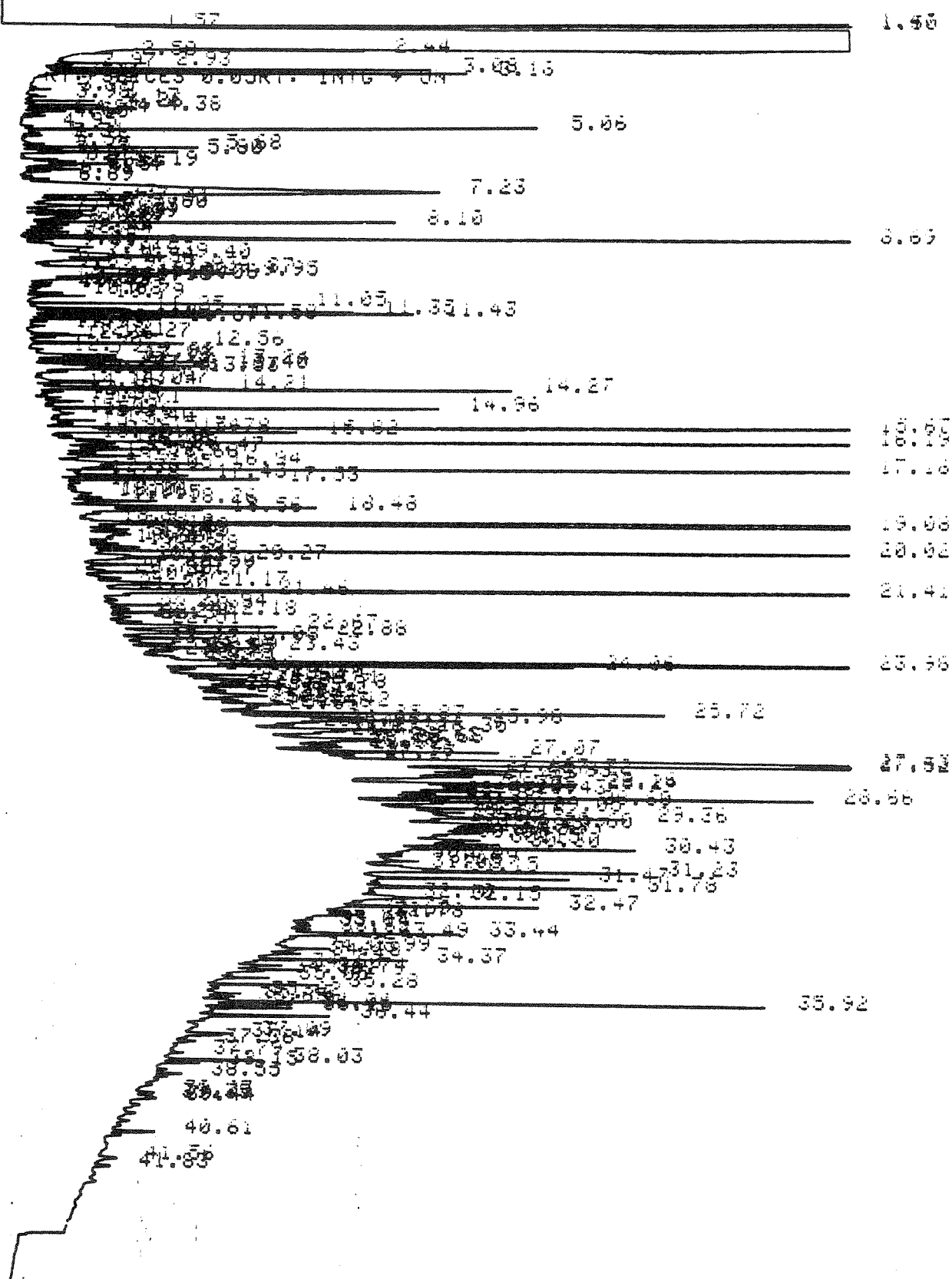
Med vennlig hilsen

SENTER FOR INDUSTRIFORSKNING

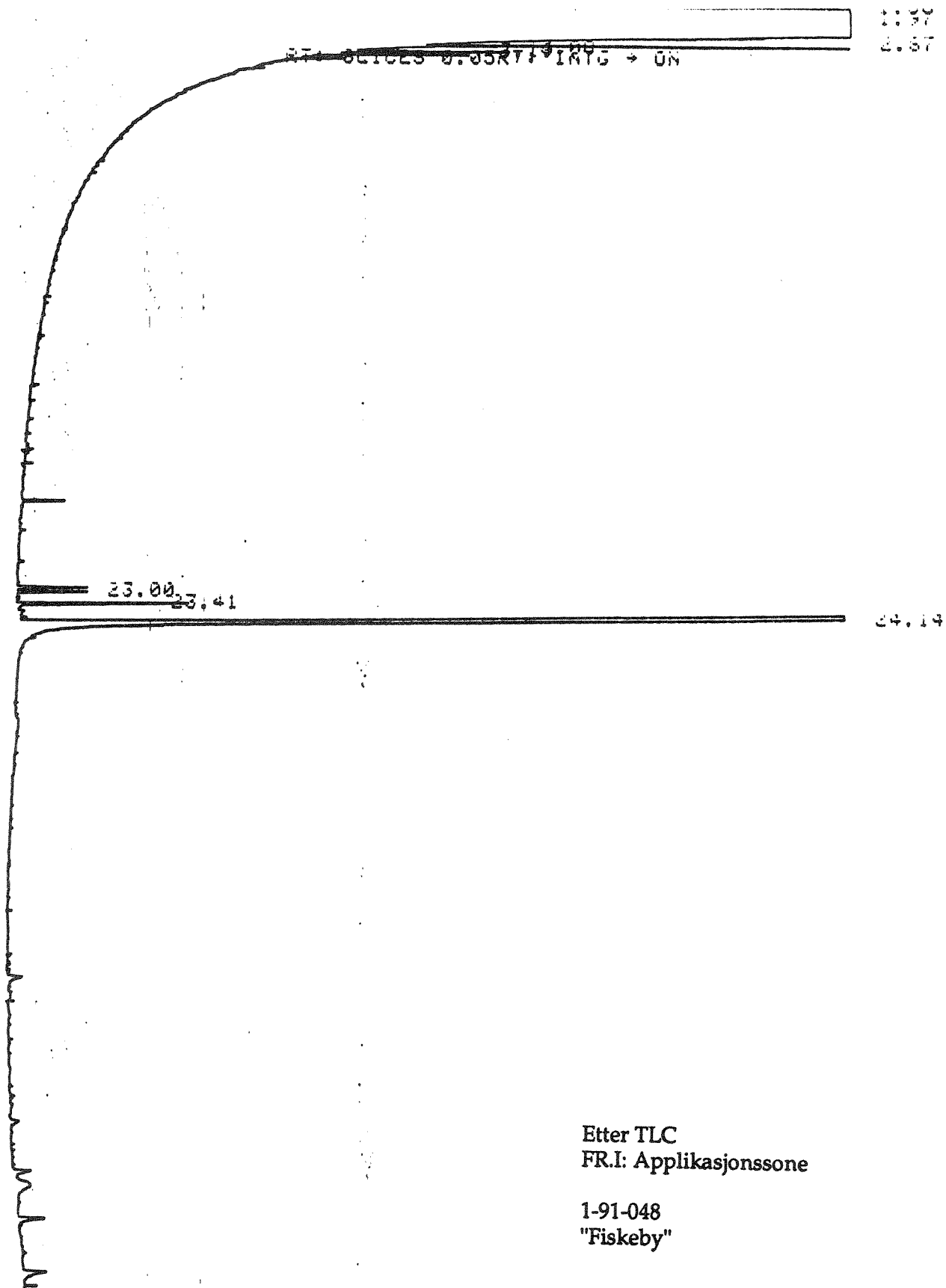
Arne L. Kvernheim

Berit Holestøl

Vedlegg: 5

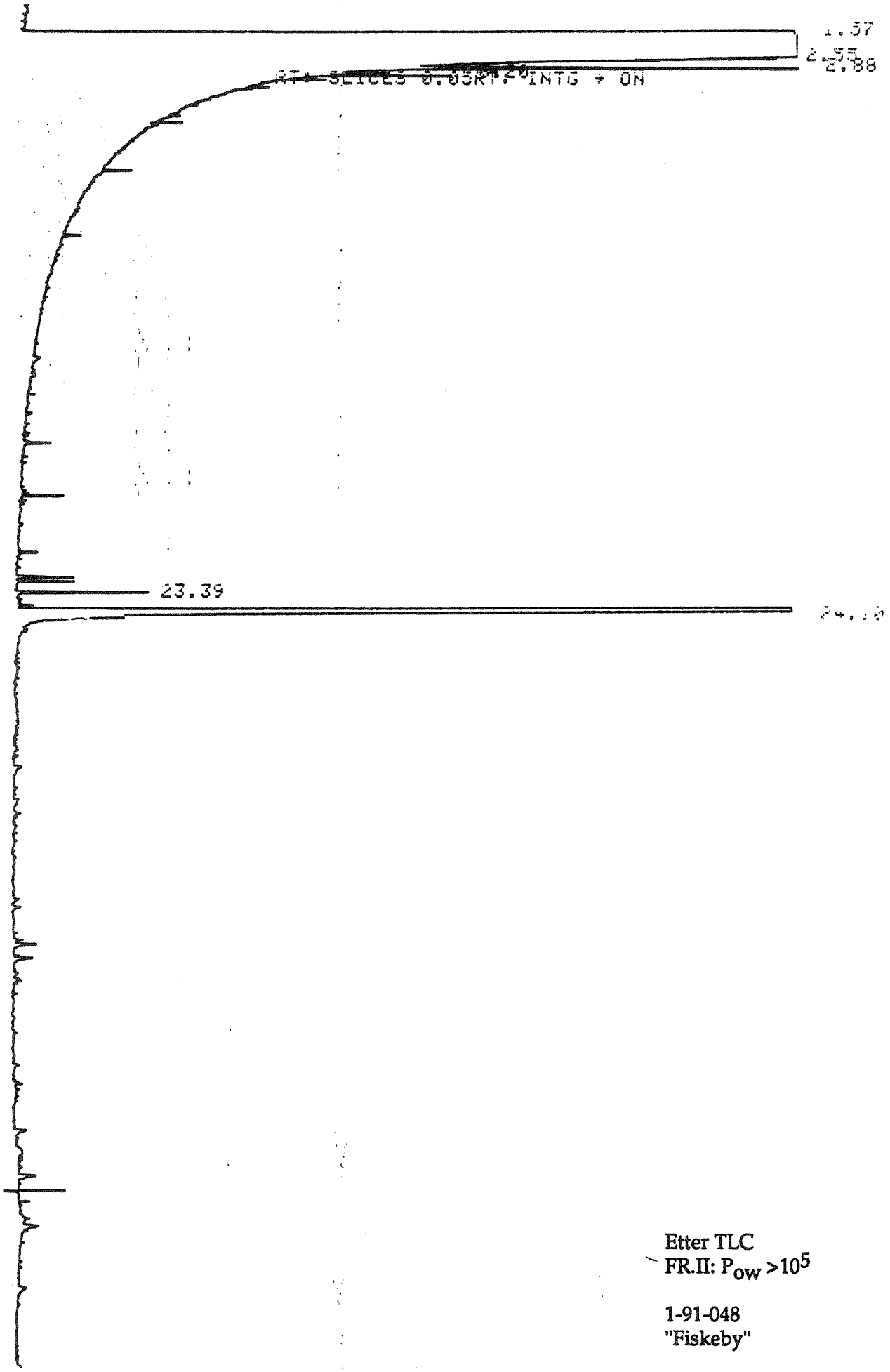






Etter TLC  
FR.I: Applikasjonsone

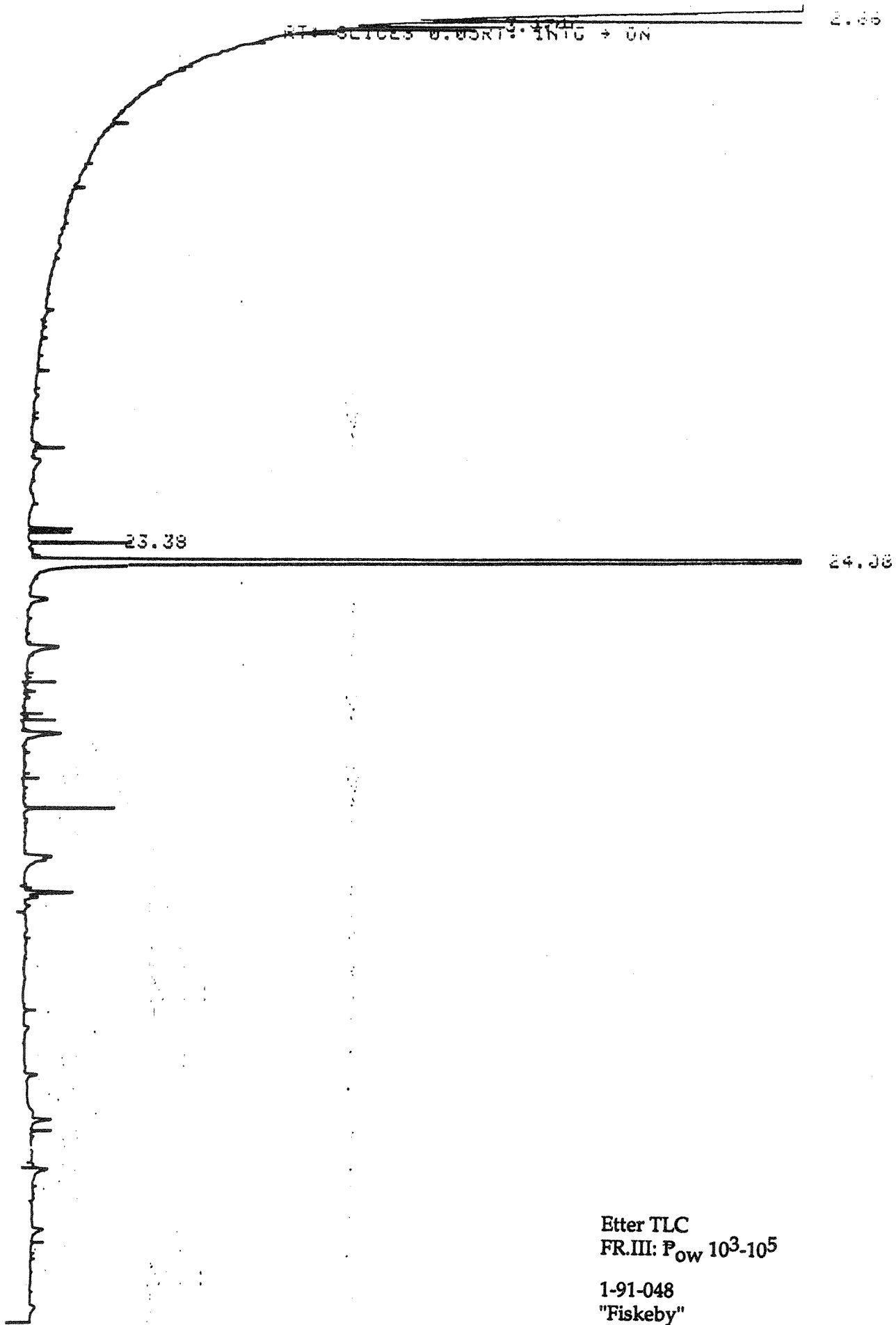
1-91-048  
"Fiskeby"



130

Etter TLC  
FR.II: P<sub>ow</sub> >10<sup>5</sup>

1-91-048  
"Fiskeby"



Etter TLC  
FR.III: P<sub>ow</sub> 10<sup>3</sup>-10<sup>5</sup>  
1-91-048  
"Fiskeby"

## METODE FOR BESTEMMELSE AV POTENSIELT BIOAKKUMULERBARE SUBSTANSER

## Surt ekstrakt

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

- I Fraksjon: Applikasjonsone
- II " : Pow  $>10^5$
- III " : Pow  $10^3 - 10^5$

Lipofile eller potensielt bioakkumulerbare organiske forbindelser ble bestemt ved tynnsjiktskromatografi av sykloheksanekstrakter av vannprøvene. Metoden er en tillempning av en metode utarbeidet av Lars Renberg et al.<sup>1)</sup> Substanser med en fordelingskonstant oktanol/vann Pow  $>10^3$  ble regnet som potensielt bioakkumulerbare. Fraksjonene ble utskrapt og ekstrahert med sykloheksan/isopropanol (1:1) 3 ganger. De samlede ekstraktene ble ristet med vann pH ca 2. Sykloheksanekstraktet ble vasket med surt vann og tørket med natriumsulfat.

Den potensielt bioakkumulerbare mengden i hvert ekstrakt ble bestemt ved gasskromatografisk analyse med flammeionisasjonsdetektor (FID). Arealet av de enkelte toppene relatert til en indre 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 indre 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.

Forsøksbetingelser ved GC analysen: Kapillærkolonne, fused silica, DB5, 1. 30 m indre diam. = 0,24 mm

program: Starttemp.  $60^{\circ}C$ , henstand 2 min  
oppv.hast  $5^{\circ}C/min$   
sluttemp.  $280^{\circ}C$ , henstand 8 min,  
attn. 2<sup>3</sup>

standard:  $n-C_{18}H_{38} = 106.9 \mu g/ml$

<sup>1)</sup> Lars Renberg et al., *Chemosphere*, Vol. 9, 1980, s.683-691

## BILAGA 6

### Nedbrytbarhetstester

Norsk institutt for vannforskning NIVA

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

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

Oppdrag nr.: 91063

TESTSTOFF: Avløp vann. Fiskeby Board AB

TESTAPPARATUR: Manometrisk respirometer, WTW 2001

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

INOCULUM: Blanding av aktiv-slam fra lab. enhet (Husmann unit) dyrket i OECD syntetisk kloakk og luftet (2 døgn) kom. avløpsv. (NS 4749). Sentrifugert, vasket (2x) og resuspendert i fortynningsvann. Kimtall:  $7,9 \cdot 10^4$ /mg STS. Tilsetning: 20 mg STS/L.

INKUBASJON: Temperatur:  $20 \pm 1$  °C . Varighet: 28 dager.  
pH: Start 7,4 Slutt: 7,4

Testperiode: 23.04.91 - 21.05.1991

REFERANSE-STOFF: Anilin, 20 mg C/L Lag-fase 2 døgn  
Nedbrytningsgrad: DOC-reduksjon, 97 % etter 28 døgn.  
Sammenlignet ned anilinkontrollen ble det ikke observert hemningseffekt i blandinger av anilin og testprøve ved de anvendte testkonsentrasjoner.

Konsentrasjon av TOC i avløpsvannet: 143 mg/L

Konsentrasjon av DOC i avløpsvannet: 139 mg/L

Karbon-verdiene som DOC ved start ( $DOC_0$ ) og etter 28 døgn bionedbrytning er korrigert for  $DOC_0$  og  $DOC_{28}$  i blank-prøve (inoculum).  
(DOC=Løst organisk karbon, BOD=Biokjemisk oksygenforbruk)

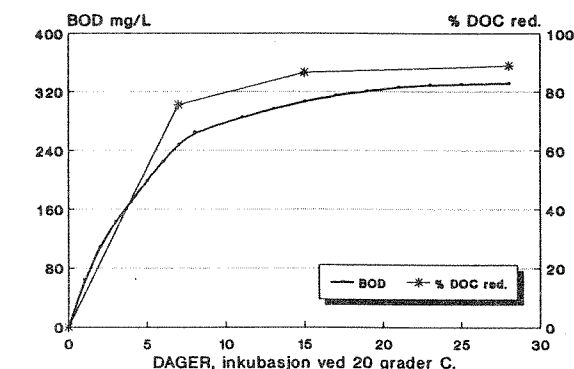
RESULTATER: DOC- reduksjon = 89 %  $BOD_{28} = 330$  mg/L

Fort. grad	Analyser, mg/L. DOC reduksjon						$BOD_{28}$ mg/L <sup>8</sup>	
	$DOC_0$	$DOC_7$	%	$DOC_{14}$	%	$DOC_{28}$		%
1:4 I	33,2	8,15	75	4,42	87	3,65	89	83
II	33,4					3,53	89	82
1:2 I	66,2					7,87	88	162

## Kommentarer:

Det ble påvist et meget rask biokjemisk oksygenforbruk og DOC-reduksjon. Dette viser at meste-parten av de organiske stoffene er lett nedbrytbare.  $NO_3$ -N analyser påviste ikke nitrifikasjon under inkubasjonen.

## DOC-red. og BOD utvikling:



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. DOC er analysert på ASTRO mod. 2001 TOC/TC analysator.

Norsk Institutt for Vannforskning

**TESTRAPPORT:  
BIOOKSIDASJON AV ORGANISKE FORBINDELSER I VANN**

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

Oppdrag nr.: 91063

TEST STOFF: Avløpsvann. Fiskeby Board AB

TESTBETINGELSER

APPARATUR: 10 L Glass flasker

TEST-KONSENTRATSJON: 1 : 2 (50 %)fortynnet i BOD-fortynningsløsning.

TEST-MEDIUM: ISO 7827 Fortynningsløsning tilsatt næringsalter  
Tilsats av løsn. A: 5 ml /L.  
N-kilde: 5 mg/L NH<sub>4</sub>Cl. Standard av øvrige løsninger.

INOKULUM: Blanding av aktiv-slam fra lab. enhet (Husmann unit) dyrket i OECD syntetisk kloakk og luftet (2 døgn)kom. avløpsv. (NS 4749). Sentrifugert, vasket (2x) og resuspendert i fortynningsvann.  
Kimtall:  $7,9 \cdot 10^4$ /mg STS. Tilsetning: 20 mg STS/L.

INKUBASJON: Temperatur;  $20 \pm 1,0^{\circ}$  C . Varighet: 28 dager.  
pH, start: 7,4 pH, slutt: 7,4

Testperiode: 23.04.- 21.05. 1991

REFERANSE STOFF: Anilin 20 mg C/l. Nedbrytningsgrad, DOC reduksjon: 97 % etter 28 døgn.

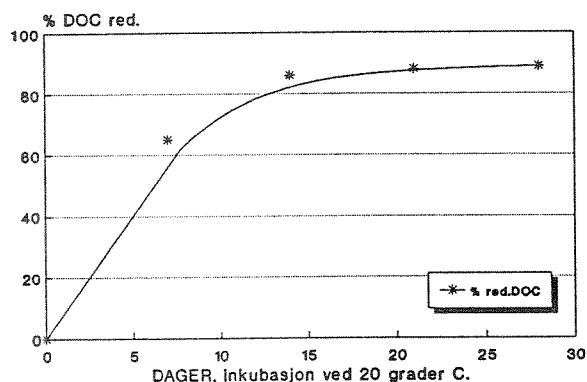
RESULTATER

DOC reduksjon etter 28 døgn inkubasjon: 89 %

Kommentarer:

Bionedbrytningen målt som DOC reduksjon gikk meget raskt. Hele 65 % reduksjon ble det påvist etter 5 døgn.

DOC-reduksjon kurve:



Harry Efraimsen  
Testansvarlig

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

## BIOOKSIDASJON I FERSKVANN

## DATA SKJEMA

Test laboratorium: Norsk Institutt for Vannforskning, NIVA

Produkt: Avløpsvann. Fiskeby Board AB

Metode: Kontinuerlig omrøring (ISO 7827 DOC analysis).

Dato for test-start: 23.04. 1991

Avløpsvannets karbon-innhold: 143 mg/l TOC  
 Konsentrasjon i test-løsningen: 67.7 mg/l DOC

Inoculum: Mikroorganismer i effluent aktiv slam anlegg + luftet kloakk vann. Tilsats: 20 mg/L Suspendert stoff.

Løst organisk karbon DOC

	Fl. Nr.		Konsentrasjon etter x dager ( mg/l C )				
			0	7	14	21	28
Teststoff testvann+ nærings- salter.	1	t <sub>1</sub>	66.0	25.5	9.6	8.5	7.86
	2	t <sub>2</sub>	67.4	23.6	9.6	8.8	7.84
		Ct Snitt	67.7	24.0	9.6	8.65	7.85
Blank tettvann+ nærings- salter.	1	b <sub>1</sub>	0.47		0.57	0.58	0.7
	2	b <sub>2</sub>	0.63				0.72
		Cbl Snitt	0.55		0.57	0.6	0.7

## Evaluering av rå-data

DOC-konsentrasjon - blank	% DOC reduksjon etter x dager			
	7	14	21	28
Snitt $Dt = \left[ 1 - \frac{Ct - Cbl_t}{Ct_0 - Cbl_0} \right] \cdot 100$	65	86	88	89

Dt = % DOC reduksjon ved tid t.

C<sub>0</sub> = DOC konsentrasjon ved start.

C<sub>t</sub> = DOC konsentrasjon ved tid t.

Cbl<sub>0</sub> = DOC konsentrasjon i blank ved tid start.

Cbl<sub>t</sub> = DOC konsentrasjon i blank ved tid t.

Carbon analysator:

Karbon ble analysert på ASTRO 2001 TC/TOC analyser.