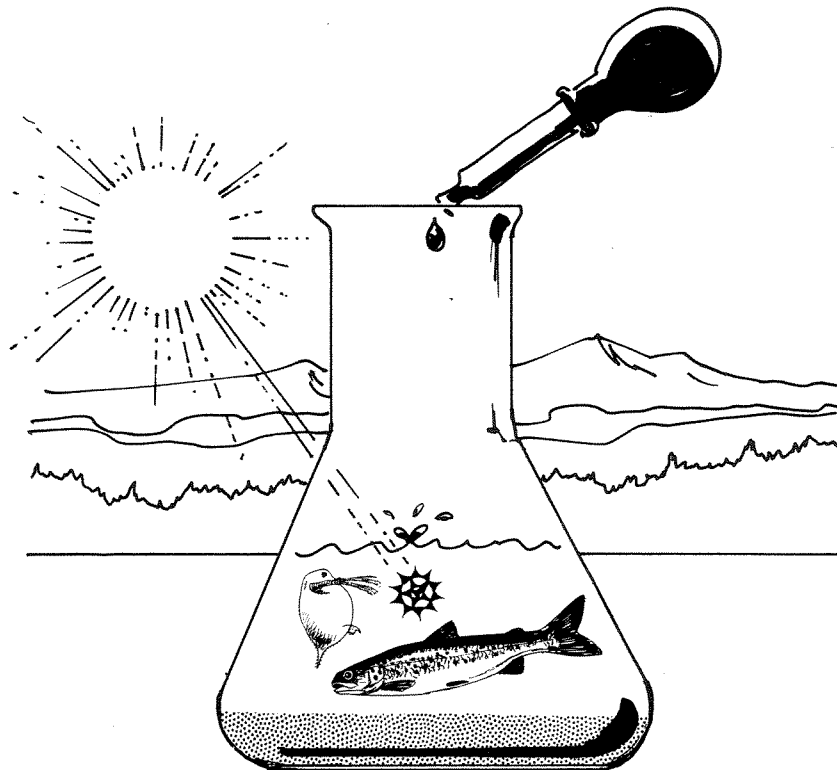





O-93094

# Kjemisk/økotoksikologisk testing av avløpsvann fra Jotun AS, Manger



# NIVA - RAPPORT

Norsk institutt for vannforskning  NIVA

Prosjektnr.:	Undemr.:
O-93094	
Løpenr.:	Begr. distrib.:
2922	

<b>Hovedkontor</b>	<b>Sørlandsavdelingen</b>	<b>Østlandsavdelingen</b>	<b>Vestlandsavdelingen</b>	<b>Akvaplan-NIVA A/S</b>
Postboks 69, Korsvoll	Televeien 1	Rute 866	Thormøhlensgt 55	Søndre Tollbugate 3
0808 Oslo 8	4890 Grimstad	2312 Ottestad	5008 Bergen	9000 Tromsø
Telefon (47) 22 18 51 00	Telefon (47 41) 43 033	Telefon (47 65) 76 752	Telefon (47 5) 32 56 40	Telefon (47 83) 85 280
Telefax (47) 22 18 52 00	Telefax (47 41) 44 513	Telefax (47 65) 76 653	Telefax (47 5) 32 88 33	Telefax (47 83) 80 509

Rapportens tittel:	Dato:	Trykket:
Kjemisk/økotoksikologisk testing av avløpsvann fra Jotun A/S, Manger	12.07 1993	NIVA 1993
	Faggruppe:	
	Miljøtoksikologi	
Forfatter(e):	Geografisk område:	
Torsten Källqvist	Hordaland	
	Antall sider:	Opplag:
	28	40

Oppdragsgiver:	Oppdragsg. ref. (evt. NTNf-nr.):
Jotun A.S.	AN/Miljø 81.05.05

## Ekstrakt:

En kjemisk/økotoksikologisk karakterisering av en ukeblandprøve av utgående avløpsvann fra Jotun A/S er utført. Prøven ble tatt 24-30.3 1993. Avløpsvannet var svakt surt, med relativt høyt innhold av løste organiske forbindelser. Mesteparten av det organiske materialet var lett nedbrytbart. 0.5% var potensielt bioakkumulerart, med en fordelingskoeffisient oktanol/vann  $>10^3$ . Toksiske effekter ble undersøkt på alger, krepsdyr (dafnier) og fisk (aure). Veksten av alger ble hemmet ved konsentrasjoner ned til ca. 1%.  $EC_{50}$ -verdien (50% veksthemming) var ved 3.5% konsentrasjon av avløpsvannet. Akutte effekter på dafnier og aure opptrådte først ved noe høyere konsentrasjoner, og  $LC_{50}$ -verdiene var henholdsvis 23 og 7.3%.

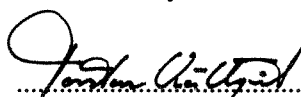
4 emneord, norske

1. Industriavløpsvann
2. Toksisitet
3. Nedbrytbarhet
4. Bioakkumulering

4 emneord, engelske

1. Industrial waste water
2. Toxicity
3. Biodegradability
4. Bioaccumulation

Prosjektleder



Torsten Källqvist

For administrasjonen



Håvard Hovind

ISBN 82-577-2342-8

**Norsk Institutt for Vannforskning NIVA**

**O-93094**

**Kjemisk/økotoksikologisk testing av avløpsvann**

**fra Jotun A.S. , Manger**

Prosjektleder:	Torsten Källqvist	NIVA
Medarbeidere:	Harry Efraimsen	NIVA
	Randi Romstad	NIVA
	Magne Grande	NIVA
	Sigbjørn Andersen	NIVA
	Berit Holestøl	SINTEF/SI

# INNHOOLD

1. BAKGRUNN .....	3
2. PROGRAM FOR KARAKTERISERINGEN .....	3
2.1 Økotoksikologisk karakterisering .....	3
2.1.1 Toksisitetstester .....	3
2.1.2 Nedbrytbarhetstester .....	4
2.1.3 Bioakkumulerbarhet .....	5
2.2 Kjemisk karakterisering .....	6
3. RESULTATER .....	6
3.1 Toksisitet .....	6
3.2 Bioakkumuleringspotensial .....	8
3.3 Nedbrytbarhet .....	8
3.4 Kjemisk karakterisering .....	9
4. KOMMENTARER .....	9
5. REFERANSER .....	11

# 1. BAKGRUNN

Jotun A/S henvendte seg i november 1992 til NIVA for å få utført en kjemisk/økotoksikologisk karakterisering av avløpsvann fra Jotuns fabrikk på Manger, Bergen. NIVA utformet et programforslag for undersøkelsen, og mottok bestilling 28.01.93. Prøver av avløpsvannet ble tatt i perioden 24.3-30.3. 1993.

## 2. PROGRAM FOR KARAKTERISERINGEN

Prøvetakingen ble gjennomført av bedriften etter retningslinjer avtalt med NIVA. Prøvetakingen utførtes manuelt ved at 2 l prøver ble pumpet opp fra oljeskiller ved utløp til sjø 10 ganger i løpet av hver arbeidsdag fra 24.3 - 30.3. Prøvene ble samlet i polyeten plastkanner. Døgnprøvene ble frosset og sendt til NIVA 22.04.93. Etter tining ble døgnprøvene blandet i forhold til den daglige vannføringen til en ukeblandprøve som ble fordelt til de ulike testene. Tester/analyser som inngår i den kjemiske/økotoksikologiske karakteriseringen ble utført av NIVA i samarbeid med SINTEF/SI.

### 2.1 Økotoksikologisk karakterisering

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

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

#### 2.1.1 Toksitetstester

Avløpsvannenes toksisitet ble undersøkt med tre ulike testorganismer; alger, krepsdyr (dafnier) og fisk (aure). Testmetodene er de samme som blir brukt til klassifisering/merking av kjemikalier m.h.t. miljøfarlighet, og gir et grovt mål på stoffers generelle giftighet for vannlevende organismer. Ved slike undersøkelser er det vanlig å bruke et batteri av testorganismer fra ulike viktige organismegrupper fordi det kan forekomme stor forskjell i følsomhet mellom ulike organismer.

Toksitetstestene utføres ved at testorganismene eksponeres for en konsentrasjonsserie av teststoffet (en kjemikalie eller et avløpsvann) fortynnet i et kontrollvann. Testorganismenes respons (f. eks.

vekst eller dødelighet) blir så målt over en viss tid. Resultatene kan tegnes opp i et konsentrasjon/responsdiagram, som viser hvordan gifteffekten endres med konsentrasjonen av teststoffet. Fra responsdiagrammet kan den konsentrasjon som gir 50% effekt på den målte responsen avleses. Denne konsentrasjon betegnes  $LC_{50}$ , hvis den målte respons er dødelighet (letalitet) eller  $EC_{50}$ , hvis andre responser enn dødelighet, s.k. subletale responser blir undersøkt (f. eks. vekst). EC står her for "effect concentration".

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

Toksisitetstesten med ferskvannsalger ble utført i henhold til OECD Guideline 201 og ISO/DIS 8692 "Algal growth inhibition test", med *Selenastrum capricornutum* som testorganisme. En konsentrasjonsserie av prøven i et algevekstmedium ble podet med aktivt voksende testalger fra en stamkultur og inkubert under standard betingelser på et gyngebord med kontinuerlig belysning.

Veksten i kulturene ble fulgt ved telling av algeceller etter 24, 48 og 72 timer. Fra vekstkurvene kan man se om veksten har vært hemmet i forhold til kontrollkulturene under noen del av eksponeringstiden. Algenes veksthastighet ble beregnet fra økningen i antall celler fra start til slutt (3 døgn). Veksthastighetene ved ulike konsentrasjoner av avløpsvannet ble tegnet opp i et konsentrasjon/responsdiagram. Fra dette ble  $EC_{50}$ -verdien bestemt ved probit-analyse.

Giftighetstesten med vannlopper (*Daphnia magna*) ble gjort i henhold til OECD Guideline 202 og ISO 6341 "Determination of the inhibition of the motility of *Daphnia magna*". Forsøksdyr som var mindre enn 24 timer gamle ble eksponert i en fortyningsserie av avløpsvannet. Det ble benyttet fire enheter med 5-7 dyr for hver konsentrasjon.

Testen ble utført ved 20 °C. Etter 24 og 48 timer ble antall dyr som var døde, eller som ikke var i stand til å bevege seg registrert.  $EC_{50}$ -verdien for immobilisering ble bestemt fra konsentrasjon/responskurven.

Giftighetstesten med fisk ble utført i overensstemmelse med OECD Guideline 201: "Fish acute toxicity test" og en norsk standard (NS 4717), med årsyngel av aure som testorganisme. Dødeligheten av fisken ble undersøkt over 4 døgn i ulike konsentrasjoner av prøven. Fiskene ble overført til ny testløsning hvert døgn (semistatisk metode).  $LC_{50}$ -verdien ble avlest fra konsentrasjon/responskurven.

### 2.1.2 Nedbrytbarhetstester

Ved nedbrytbarhetstester undersøkes den mikrobielle nedbrytningen av organiske forbindelser. Testene utføres i aerobt miljø, d.v.s. med oksygen tilstede og gir indikasjoner på om avløpsvannet

inneholder stabile organiske forbindelser som ikke er lett nedbrytbare i biologiske renseanlegg eller i miljøet. En respirometrisk testmetode ble brukt ved nedbrytbarhetstestene (OECD 301 E, ISO/DIS 9408). Forbruket av oksygen ved aerob nedbrytning ble registrert fortløpende i 4 uker ved 20 °C. Dessuten ble reduksjonen av innholdet av organisk karbon beregnet ved analyser av DOC ved start og slutt.

Prøvene ble fortynnet til ca. 20-50 mg løst organisk karbon (DOC) pr l, i destillert vann tilsatt uorganiske salter. Et inokulum av mikroorganismer fra aktivslam ble tilsatt. Prøvene ble inkubert i lukkede, mørke flasker tilkoblet manometre. Karbondioksyd, produsert ved nedbrytningen ble absorbert i lut i en beholder inne i flasken. Oksygenforbruket ble registrert fortløpende på manometrene.

Ved nedbrytbarhetstester av enkeltkjemikalier er det vanlig å bruke DOC-reduksjon større enn 70% etter 28 døgn som kriterium for "lett nedbrytbart". For avløpsvann, som inneholder en blanding av stoffer er denne grenseverdi ikke uten videre anvendelig. Det kan også være behov for å undersøke hvilke stoffer (eller egenskaper) som er igjen etter nedbrytningen. Dette kan gjøres ved å gjenta deler av karakteriseringen (kjemiske analyser og toksisitetstester) etter nedbrytbarhetstesten. Behovet for gjentatt karakterisering etter nedbrytning må vurderes på grunnlag av testresultatene .

### 2.1.3 Bioakkumulerbarhet

Kjemikaliers tendens til å oppkonsentreres eller akkumuleres i levende organismer kan undersøkes med s.k. bioakkumulerbarhetstester, hvor f. eks. fisk eksponeres til lave konsentrasjoner over lang tid og konsentrasjonsøkningen av kjemikaliene i fiskekjøttet undersøkes ved analyser. P.g.a. at bioakkumulerbarheten av organiske stoffer mest avhenger av stoffets fettløselighet (lipofilitet) har man imidlertid utviklet screening-metoder for undersøkelse av potensiell bioakkumulerbarhet, som er basert på undersøkelse av fasefordelingen mellom oktanol og vann ( $P_{OW}$ ). Til dette brukes kromatografiske metoder (tynnsjikt-kromatografi eller HPLC).

Screeningmetodene for potensiell bioakkumulerbarhet kan også brukes for karakterisering av avløpsvann, ved at mengden organisk stoff i ulike  $P_{OW}$ -intervaller blir bestemt. Som potensielt bioakkumulerbart regnes stoffer med  $P_{OW} > 1000$ .

Bioakkumulerbarhetstesten ble utført med en tynnsjikt-kromatografisk metode ved SINTEF/SI. En delprøve av avløpsvannet ble ekstrahert med syklohexan. Syklohexanekstraktet ble satt av på en tynnsjiktplate for separering av komponenter med forskjellig lipofilitet. Fra tynnsjiktplaten ble fraksjoner med  $P_{ow} > 10^6$  skrapet av for kvantifisering med GC-analyse.

## 2.2 Kjemisk karakterisering

Følgende kjemiske analyser ble utført på ukeblandprøven.

pH-verdi  
konduktivitet  
kjemisk oksygenforbruk  
totalt organisk karbon (TOC)  
suspendert materiale

## 3. RESULTATER

### 3.1 Toksisitet

Resultater av toksisitetstestene fremgår av vedlagte testrapporter for alger, dafnier og fisk (vedlegg 1). EC og LC<sub>50</sub>-verdier er sammenstilt i tabell 1.

Tabell 1. Resultat av toksisitetstester av avløpsvann: EC<sub>50</sub> og LC<sub>50</sub>-verdier angitt som % avløpsvann.

Avløpsvann	EC <sub>50</sub> alger (72 timer)	EC <sub>50</sub> dafnia (48 timer)	LC <sub>50</sub> fisk (96 timer)
Blandprøve 24-30.3	3.5 %	23 %	7.4

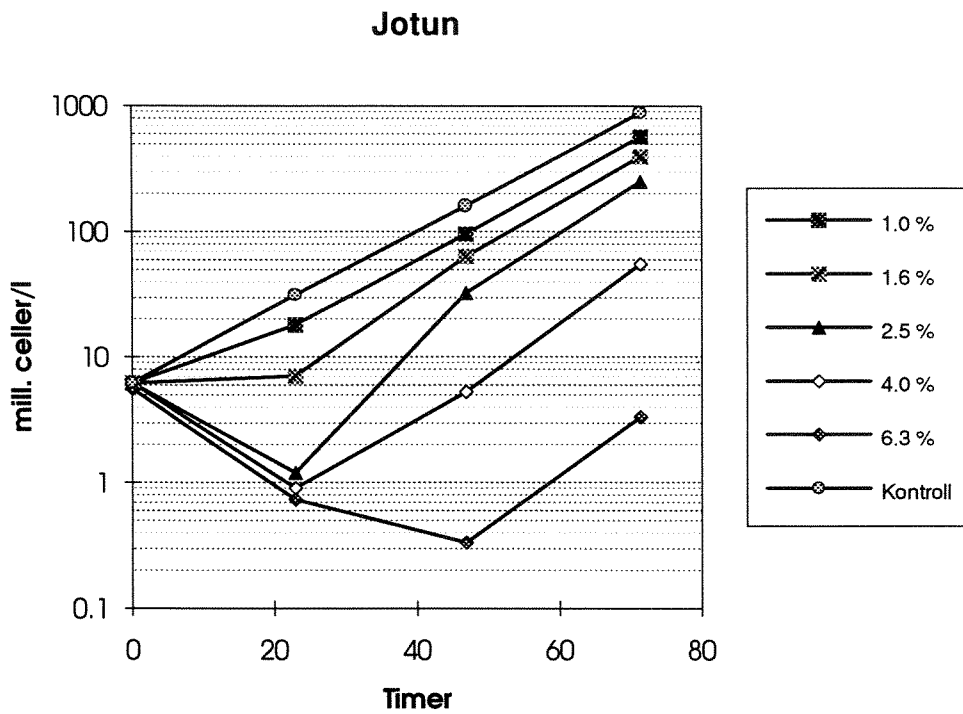
Giftighetstesten med alger viste redusert vekst i forhold til kontrollen ned til 1% konsentrasjon av avløpsvann. Vekstkurvene (fig. 1) viser at effekten var mest markert det første døgnet. Ved 2.5% og høyere konsentrasjoner ble det registrert en nedgang i celletetthet det første døgnet, men de celler som overlevde begynte senere å vokse med normal hastighet. Dette fremgår av helningsvinkelen til vekstkurvene, som det siste døgnet er omtrent lik ved samtlige konsentrasjoner. Årsaken til dette mønsteret er enten at avløpsvannet inneholder giftige forbindelser som forsvinner fra vannfasen ved fordamping eller nedbrytning eller at algene klarer å tilpasse seg til giftpåvirkningen. Mest trolig er det flyktige forbindelser i avløpsvannet som gir en akutt gifteffekt i startfasen.

I giftighetstesten med dafnier døde samtlige dyr i løpet av 2 døgn i 40% konsentrasjon, mens samtlige overlevde ved 10%. LC<sub>50</sub>-verdien var 23% (Se fig. 2).

Fisken var noe mer følsom for avløpsvannet enn dafnier. Ved 30 % konsentrasjon døde fisken i løpet



av noen timer og ved 20% etter et døgn. Etter 4 døgn var 6 av 7 fisk døde ved 10% konsentrasjon, mens samtlige levde ved 5% (Se fig. 3). LC<sub>50</sub>-verdien er beregnet til 7.4%.



Figur 1. Vekstkurver som viser utviklingen av algetetthet over tid ved ulike konsentrasjoner av avløpsvann fra Jotun A.S.

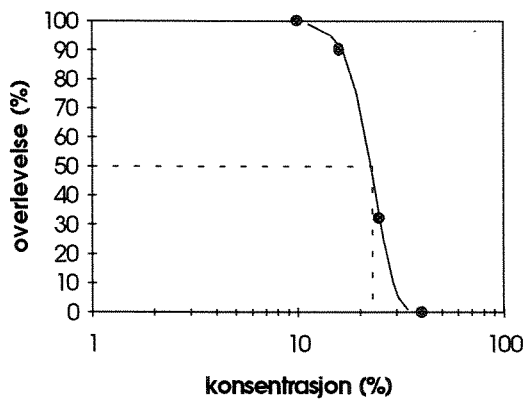


Fig. 2. Overlevelse av dafnia etter 48 timer ved ulike konsentrasjoner av avløpsvann

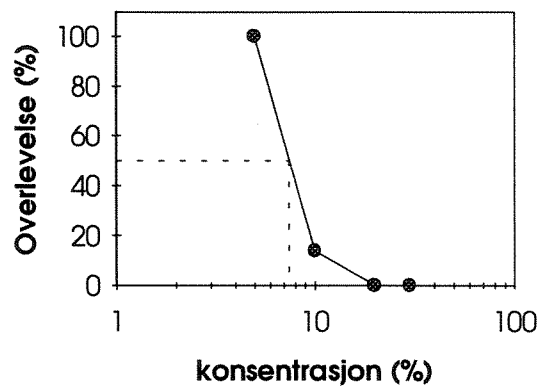


Fig. 3. Overlevelse av aure etter 96 timer ved ulike konsentrasjoner av avløpsvann

### 3.2 Bioakkumuleringspotensial

Resultatene av analysene av fordelingskoeffisienten oktanol/vann er vist i vedlegg 2 og sammenstilt i tabell 2. Stoffer med  $P_{ow} > 10^3$  regnes som potensielt bioakkumulerbare. Prøven inneholdt 5.8 mg/l av substanser med  $P_{ow} > 10^3$ . Ut fra avløpsvannets innhold av organisk karbon kan den potensielt bioakkumulerbare fraksjonen anslås til 0.5 % av de organiske komponentene.

Tabell 2. Ekstraherbart organisk stoff og fraksjoner av dette med  $P_{ow} > 10^3$

Prøve	Fraksjon før tynnsjikt	$P_{ow} > 10^3$
Blandprøve 24-30.3	150 mg/l	5.8 mg/l

### 3.3 Nedbrytbarhet

Resultatene av nedbrytbarhetstestene er sammenstilt i tabell 3. Testrapporten er presentert i vedlegg 3. Oksygenforbruket viste at mesteparten av omsetningen skjedde den første uken (Se fig. 4). Deretter økte oksygenforbruket langsomt til 1320 mg/l etter 28 døgn. Dette er 68% av det kjemiske oksygenforbruket ved fullstendig oksidasjon med dikromat (COD). DOC-reduksjonen var 82% etter 28 døgn. Resultatene viser at mesteparten av det organiske materialet i avløpsvannet er lett nedbrytbar. (Kriterium for klassifisering av kjemikalier som lett nedbrytbare er at DOC reduksjonen skal være >70% etter 28 døgn).

Tabell 3. Resultat fra nedbrytbarhetstester. Verdiene er angitt som mg/l ufortynnet prøve.

Avløpsvann	$COD_{Cr}$	$BOD_{28}$	$BOD_{28}/COD$	$DOC_0$	DOC-red
Blandprøve 24-30.3	1950 mg/l	1320 mg/l	68 %	610 mg/l	82%

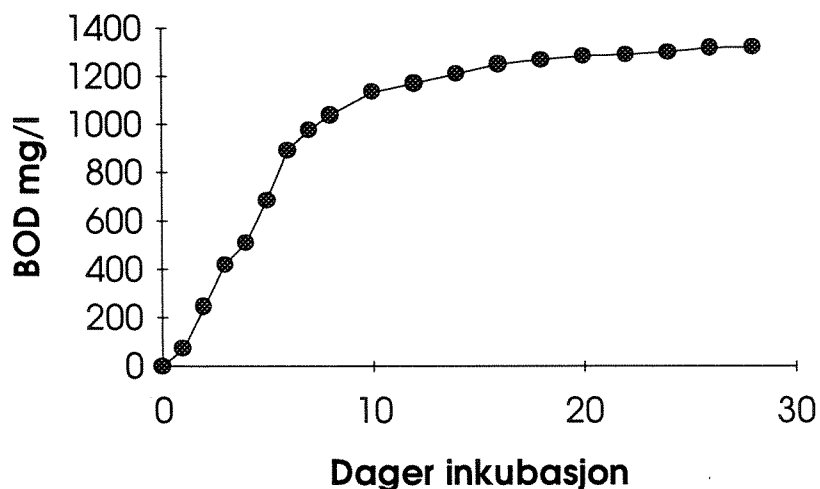


Fig. 4. Forløp av oksygenforbruk ved nedbrytbarhetstesten.

### 3.4 Kjemisk karakterisering

Den kjemiske karakteriseringen viste at avløpsvannet var svakt surt, med et lavt innhold av suspendert materiale. Innholdet av organiske forbindelser var imidlertid relativt høyt, som fremgår av TOC-konsentrasjonen og det kjemiske oksygenforbruket. Det organiske materialet foreligger i hovedsak som løste forbindelser.

Tabell 4. Resultat av kjemiske analyser av avløpsvann fra Jotun, Manger (blandprøve 24-30.3).

Parameter	Benevning	
pH		4.95
konduktivitet	mS/m	68.1
suspendert materiale	mg/l	5.9
kjemisk oksygenforbruk	COD <sub>Cr</sub> mg/l	1950
organisk karbon	TOC mg/l	640

## 4. KOMMENTARER

Avløpsvannet har et høyt innhold av løste organiske forbindelser. Mesteparten av det organiske materialet er lett biologisk nedbrytbart og utslippet vil dermed medføre et oksygenforbruk i resipienten. En mindre andel, 5.8 mg/l eller ca. 0.5% av de organiske forbindelsene er lipofile med  $P_{ow} > 10^3$ . Denne fraksjonen regnes som potensielt bioakkumulerbar. Den forholdsvis lave (daffnier)

og ustabile (alger) gifteffekten tyder imidlertid ikke på at avløpsvannet inneholder stabile og toksiske bioakkumulerbare forbindelser. Den totale utslippsmengden av potensielt bioakkumulerbare forbindelser kan beregnes til ca. 7 g/døgn.

Avløpsvannets gifteffekt var mest markert for alger, som ble påvirket ned til ca. 100 gangers fortykning. Effekten på alger var imidlertid bare kortvarig så lenge konsentrasjonen var under 10%. Denne responsen tyder på at gifteffekten skyldes flyktige forbindelser eller stoffer som brytes raskt ned. Ved utslipp i en resipient vil dette medføre at gifteffekter bare vil forekomme i et nærområde rundt utslippspunktet, hvor fortykningen er mindre enn 100 ganger. Utenfor dette område vil fortykning og nedbrytning/fordampning bringe konsentrasjonene av de giftige komponentene under det nivå som vil gi gifteffekter. Med tanke på den lave utslippsmengden, som i følge opplysninger fra Jotun er maks. 1.2 m<sup>3</sup>/d, er det område som kan tenkes å bli påvirket, dersom utslippet skjer direkte til sjøen, helt marginalt.

Den totale giftbelastningen som avløpsvannet representerer beror på både konsentrasjonen av giftige komponenter og den totale mengden avløpsvann. Dette kan beskrives ved å beregne TEF-faktorer (TEF = Toxicity emission factor) som tar hensyn både til avløpsvannets giftighet og mengde. Ved beregning av TEF-verdier omregnes EC- eller LC<sub>50</sub>-verdiene først til TU-verdier (TU = Toxic unit) ved formelen:

$$TU = \frac{100}{LC(EC)_{50}}$$

hvor LC(EC)<sub>50</sub>-verdiene er angitt som volumprosent

TEF verdien beregnes ved å multiplisere TU-verdien med avløpsvannsmengden (Q) målt som m<sup>3</sup>/d:

$$TEF = TU \cdot Q$$

Beregningen av TEF- verdier er foretatt på grunnlag av den maksimale utslippsmengden, 1.2 m<sup>3</sup>/døgn, som er angitt fra bedriften (Se tabell 5).

Tabell 5. Beregnede TEF-verdier for henholdsvis alger, dafnier og fisk, basert på maksimal utslippsmengde. (TEF= Toxicity Emmission Factor).

Q (m <sup>3</sup> /d)	TEF alger	TEF dafnia	TEF fisk
1.2	29	4.3	13.5

Til sammenligning kan nevnes at TEF-verdier for dafnier ved en undersøkelse av 21 kjemiske industrier i Sverige varierte fra 100 - 110 000 med middelveiden 10600 (Naturvårdsverket 1992).  
Utslipet representerer således en beskjeden toksisk belastning.

## **5. REFERANSER**

Statens Naturvårdsverk 1992: Utslipp av stabila organiska ämnen från kemiindustrin.  
Undersökningar 1989-1991. Naturvårdsverket Rapport 4103.

**Vedlegg 1.**  
**Toksisitetstester**

Norsk Postboks 69 Korsvoll  
 Institutt 0808 Oslo  
 for Tel: 22 18 51 00  
 Vannforskning Fax: 22 18 52 00

Alger, vekshemmingstest  
 ISO 8692, OECD 201

**Teststoff:** Avløpsvann fra Jotun, Manger 24-30.3. 1993

**Lab. kode:** B067/11

## Test data:

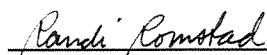
Organisme: *Selenastrum capricornutum* NIVA CHL1  
 Testparameter: Veksthastighet fra start til 72 timer  
 Stamkultur: Semi-kontinuerlig i 10% Z8 vekstmedium (Staub 1961)  
 Start dato: 28.04 og 3.5. 1993  
 Konsentrasjoner: 0.63, 1, 1.6, 2.5, 4, 6.3, 10 %  
 Test medium: ISO DIS 8692  
 Inkuberingsutstyr: Gyngbord  
 Dyrkingsflasker: 100 ml ståkolber med 50 ml medium  
 Lys: 70  $\mu\text{E m}^2 \text{s}^{-1}$ , kontinuerlig fra dagslys-type lysstoffør  
 Temperatur: 20.1 - 20.6 °C  
 pH i kontroll Start : 7.5 - 7.6 Slutt: 7.8 - 7.9  
 pH i høyeste konsentrasjon Start : 6.8 Slutt: 7.3  
 Vekstmåling: Partikkeltelling med Coulter Multisizer  
 Beregning av  $\text{EC}_{50}$  \* Probit transformering og lineær regresjon av probit verdier mot log. konsentrasjon  
 Beregning av NOEC \*\* t-test

**Resultater:** Celletetthet på hvert målepunkt, det beregnede areal under vekstkurve og veksthastighet i hver kolbe er vist på vedlagt skjema. Middelveier for kontroller og ulike konsentrasjoner av teststoff er listet lengst ned på 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	%	3.5	3.2 - 3.9	1.2	1.1 - 1.3	<0.63

**Kommentarer:** Veksthemming ved samtlige testkonsentrasjonen ble registrert det første døgnet (Se fig. 1) . Senere tok seg veksten opp i konsentrasjoner opp til 4%. Responen kan tyde på giftvirkning av flyktige komponenter.

Testen utført av:

  
 Randi Romstad

Testansvarlig:

  
 Torsten Kallqvist

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

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

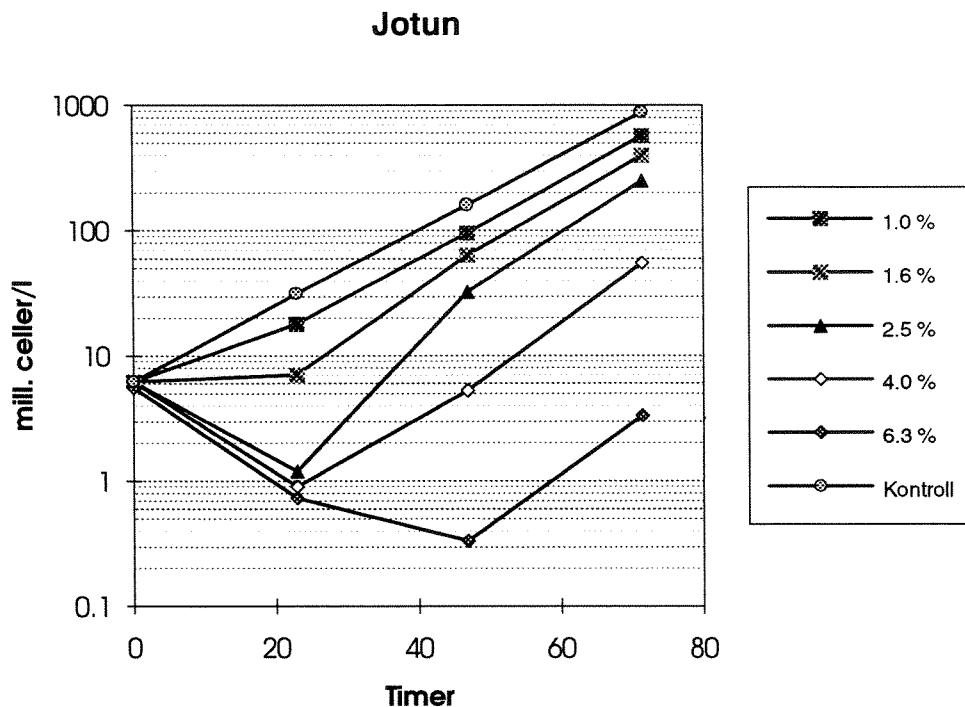


Fig. 1. Vekstkurver for *Selenastrum capricornutum* i ulike konsentrasjoner av avløpsvann fra Jotun A.S.

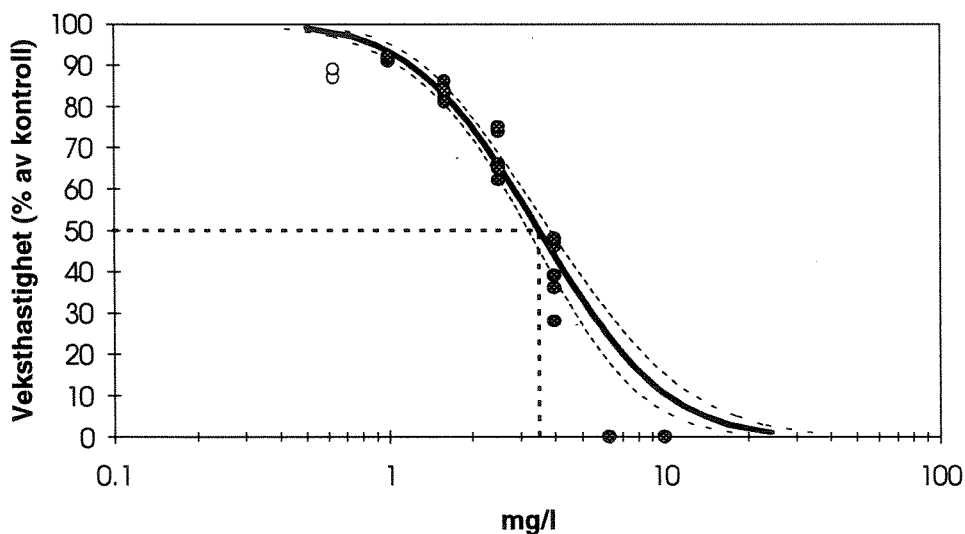


Fig. 2. Effekt av avløpsvann fra Jotun A.S. på veksthastigheten til *Selenastrum capricornutum*. Observasjoner markert med åpne symboler ikke inkludert i beregningen av  $EC_{50}$ .

### Referenser:

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

OECD 1984: Guidelines for testing of chemicals, no. 201; Alga, growth inhibition test. OECD, Paris

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



NIVA

TEST:>> ISO 8692

Dato>>> 28.04.93

TESTSTOFF>>>> Avløpsvann

Lab. kode >>>> B067/11

TESTALGE>>>> *Selenastrum capricornutum*

Medium ISO

INOKULUM>>>> 5.6 mill. celler/l

	Timer:	Dag 1	Dag 2	Dag 3	Areal	Areal %	V. hast.	V. hast %
		24	49	74				
		mill/l	mill/l	mill./l				
Kons. 1	1.6 %	7.7	37	234	3691	36	1.21	81
		8.6	43	291	4576	44	1.28	86
		8.5	41	265	4199	41	1.25	84
Kons.2	2.5 %	1.6	18	119	1630	16	0.99	66
		1.5	13	111	1402	14	0.97	65
		1.3	12	99	1222	12	0.93	62
Kons. 3	4.0 %	0.5	1.5	30	78	1	0.54	36
		0.7	2.8	52	390	4	0.72	48
		0.3	0.6	20	-75	-1	0.41	28
Kons. 4	6.3 %	0.9	0.5	5.6	-243	-2	0.00	0
		0.5	0.3	2.8	-292	-3	-0.22	-15
		0.8	0.2	1.6	-303	-3	-0.41	-27
Kons. 5	10 %	0.4	0.4	1.3	-311	-3	-0.47	-32
		0.5	0.5	1.3	-306	-3	-0.47	-32
		0.4	0.4	1.1	-314	-3	-0.53	-35
Kons. 6								
Kons. 7								
Kontroll		22	112	587	10329	100	1.51	101
		25	125	623	11178	108	1.53	102
		25	144	788	13715	133	1.60	107
		23	100	431	8104	78	1.41	94
		23	104	497	9029	87	1.45	97
		24	108	538	9666	94	1.48	99

MIDDELVERDIER

1.6 %	Mv.	8.27	40.33	263.33	4155	40.20	1.25	83.31
	St. d.	0.40	2.49	23.30	362	3.51	0.03	1.93
2.5 %	Mv.	1.47	14.33	109.67	1418	13.72	0.96	64.36
	St. d.	0.12	2.62	8.22	167	1.61	0.02	1.64
4.0 %	Mv.	0.50	1.63	34.00	131	1.27	0.56	37.39
	St. d.	0.16	0.90	13.37	193	1.87	0.13	8.48
6.3 %	Mv.	0.73	0.33	3.33	-279	-2.70	-0.21	-14.05
	St. d.	0.17	0.12	1.68	26	0.25	0.17	11.10
10 %	Mv.	0.43	0.43	1.23	-310	-3.00	-0.49	-32.83
	St. d.	0.05	0.05	0.09	3	0.03	0.03	1.71
0.00	Mv.							
	St. d.							
0.00	Mv.							
	St. d.							
Kontroll	Mv.	23.67	115.50	577.33	10337	100.00	1.50	100.00
	St. d.	1.11	14.96	112.53	1792	17.34	0.06	4.09

## NIVA

TEST:&gt;&gt; ISO 8692

Dato&gt;&gt;&gt; 03.05.93

TESTSTOFF&gt;&gt;&gt;&gt; Avløpsvann

Lab. kode &gt;&gt;&gt;&gt;&gt; B067/11

TESTALGE>>>>> *Selenastrum capricornutum*

Medium ISO

INOKULUM&gt;&gt;&gt;&gt;&gt; 6.2 mill. celler/l

	Timer:	Dag 1	Dag 2	Dag 3	Areal	Areal %	V. hast.	V. hast %
		23	47	71.5				
		mill/l	mill/l	mill./l				
Kons. 1	0.63 %	23	101	449	8118	54	1.44	87
		20	104	497	8708	58	1.47	89
		23	94	498	8549	57	1.47	89
Kons.2	1.0 %	20	96	583	9568	64	1.53	92
		16	93	551	9009	60	1.51	91
		18	97	576	9459	63	1.52	92
Kons. 3	1.6 %	6.6	71	444	6944	46	1.43	86
		6.1	61	383	5942	40	1.38	83
		8.5	57	365	5681	38	1.37	82
Kons. 4	2.5 %	1.2	33	258	3617	24	1.25	75
		1	33	245	3453	23	1.23	74
		1.4	31	249	3463	23	1.24	75
Kons. 5	4.0 %	0.9	6.2	63	571	4	0.78	47
		0.8	5.4	60	513	3	0.76	46
		1	4.1	42	265	2	0.64	39
Kons. 6								
Kons. 7								
Kontroll		33	144	884	14725	98	1.66	100
		28	151	829	14103	94	1.64	99
		30	133	770	12991	87	1.62	97
		33	182	921	16099	108	1.68	101
		33	186	924	16233	108	1.68	101
		31	169	917	15688	105	1.68	101

## MIDDELVERDIER

0.63 %	Mv.	22.00	99.67	481.33	8458	56.49	1.46	87.96
	St. d.	1.41	4.19	22.87	249	1.66	0.02	0.98
1.0 %	Mv.	18.00	95.33	570.00	9345	62.41	1.52	91.39
	St. d.	1.63	1.70	13.74	242	1.62	0.01	0.49
1.6 %	Mv.	7.07	63.00	397.33	6189	41.34	1.40	84.03
	St. d.	1.03	5.89	33.81	544	3.63	0.03	1.69
2.5 %	Mv.	1.20	32.33	250.67	3511	23.45	1.24	74.79
	St. d.	0.16	0.94	5.44	75	0.50	0.01	0.44
4.0 %	Mv.	0.90	5.23	55.00	450	3.00	0.73	43.81
	St. d.	0.08	0.87	9.27	133	0.89	0.06	3.65
0.00	Mv.							
	St. d.							
0.00	Mv.							
	St. d.							
Kontroll	Mv.	31.33	160.83	874.17	14973	100.00	1.66	100.00
	St. d.	1.89	19.59	57.01	1163	7.77	0.02	1.36

Norsk Postboks 69 Korsvoll  
 Institutt 0808 Oslo  
 for Tel: 22 18 51 00  
 Vannforskning Fax: 22 18 52 00

Akutt toksisitet, *Daphnia magna*  
 ISO 634, OECD 202

**Teststoff:** Avløpsvann fra Jotun A.S., Manger      **Lab. kode:** B067/11  
 24-30.3 1993

**Testmetode** ISO 6341, "Water Quality - Determination of the inhibition of the motility of *Daphnia magna*" Metoden er i samsvar med OECD Guideline 202; "Daphnia sp. acute immobilization test"

**Testorganisme** *Daphnia magna*, stamme 5. Vedlikeholdt i 5 µm filt. naturlig overflatevann tilsatt Elendt M7 og foret med *Selenastrum capricornutum* som er dyrket i 10% Z8 nærings saltløsning.

**Testperiode** 28-30.4 og 4-6.5 1993

**Fortynningsmedium** Elendt M7.

**Testkonsentrasjoner** 1.6, 2.5, 4.0, 6.3, 10, 16, 25, 40 %

**Antall enheter** 4 kar med 5-7 dyr for hver konsentrasjon

**Temperatur** 20±0.5°C

<b>pH-verdi</b>	kontroll	høyeste testkonsentrasjon	
	start	slutt	
	7.9-8.0	7.8-7.9	
			start      slutt
			7.9      7.9

**Oksygenmetning** Kontroll 93-94 %, ved 40% kons.: 87%

**Lys** 700 lux

**Beregning av EC<sub>50</sub>** Probit-analyse (SNV-probit)

Referansstoff: Kaliumdikromat: 24t EC<sub>50</sub>= 1.9 mg/l

**Resultater:**

Overlevelse som funksjon av konsentrasjon etter 48 timer er vist i fig. 1.

Parameter	Enhet	24 timer			48 timer		
		EC <sub>50</sub>	95% konf. int.	EC <sub>10</sub>	EC <sub>50</sub>	95% konf. int.	EC <sub>10</sub>
Immobilisering	%	31	28 - 35	22	23	20 - 25	16

**Kommentarer:**

Utført av: Randi Romstad  
 Randi Romstad

Testansvarlig: Torsten Källqvist  
 Torsten Källqvist

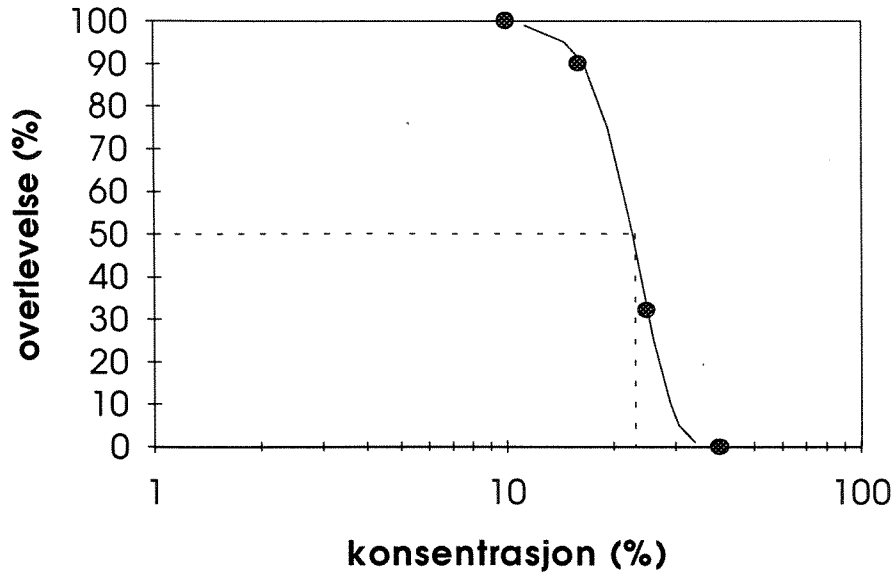


Fig. 1. Effekt av Avløpsvann fra Jotun A.S., Manger, på overlevelse av *Daphnia magna*.

Norsk Postboks 69 Korsvoll  
 Institutt 0808 Oslo  
 for Tel: 22 18 51 00  
 Vannforskning Fax: 22 18 52 00

<b>Akutt toksisitet - fisk</b> <b>OECD 202</b>
---

Teststoff: Avløpsvann Jotun A.S., Manger 24-30.3 1993      Lab. kode: B67/11

## Testmetode

Testen er utført i overensstemmelse med "OECD Guidelines for testing of chemicals" (No. 203; Fish, acute toxicity test) og en noe modifisert Norsk Standard, NS 4717; "Bestemmelse av kjemiske produkters og avløpsvanns akutte toksisitet for ferskvannsfisk - semistatisk metode". Forholdet fiskvekt/vannvolum var høyere enn anbefalt i OECD 203 (1.75 g/l).

## Testorganisme

Årsyngel (0+) av aure (*Salmo trutta*), med middelvekt 3.5 g og -lengde 6.9 cm. Fisken var hentet på et oppdrettsanlegg ved Oslo (OFA-Sørkedalen) og var av stamme Maridalsvann.

## Utførelse

Forsøket ble utført i glassakvarier med 4 l vann og 7 fisk i hver konsentrasjon av avløpsvann. Avløpsvannet ble fortynnet direkte i testkarene til de aktuelle konsentrasjoner. pH i de testede fortynningene varierte i området 5.1-6.0 og oksygenmetningen var fra 88-96%. Testfiskene ble overført til ny løsning hvert døgn (semistatisk metode) og forsøket pågikk i 4 døgn. Fisken ble observert hvert døgn og død fisk ble notert og fjernet. Vannkvaliteten i det benyttede fortynningsvannet fremgår av tabell 1. Vannet er et typisk norsk overflatevann, bløtt, svakt surt og med relativt lite innhold av løste organiske stoffer. For å opprettholde gassbalansen i løsningene ble benyttet en forsiktig innblåsing av luft. Temperaturen under forsøkene var 11.0 ±1.0 °C.

Tabell 1. Noen kjemiske data for vann benyttet i test med aure (Maridalsvann)

pH		6.7
Konduktivitet	mS/m 25 °C	2.94
TOC	mg/l	2.33
Ca	mg/l	2.57

## Resultater

I tabell 2 er oppført dødeligheten i hver konsentrasjon av avløpsvann. I figur 1 vises overlevelse etter 4 døgn ved ulike konsentrasjoner av avløpsvannet. I figuren er 4d LC<sub>50</sub>-verdien avsatt (Den konsentrasjon som dreper 50% av forsøksfisken i løpet av 4 døgn).

**4d LC<sub>50</sub>-verdien ble 7.3 %**

Tabell 2. Kumulativt antall (%) døde fisk ved forskjellig eksponeringstid.

Konsentrasjon (%)	Timer			
	24	48	72	96
0	0	0	0	0
5	0	0	0	0
10	0	0	86	86
20	100	100	100	100
30	100	100	100	100

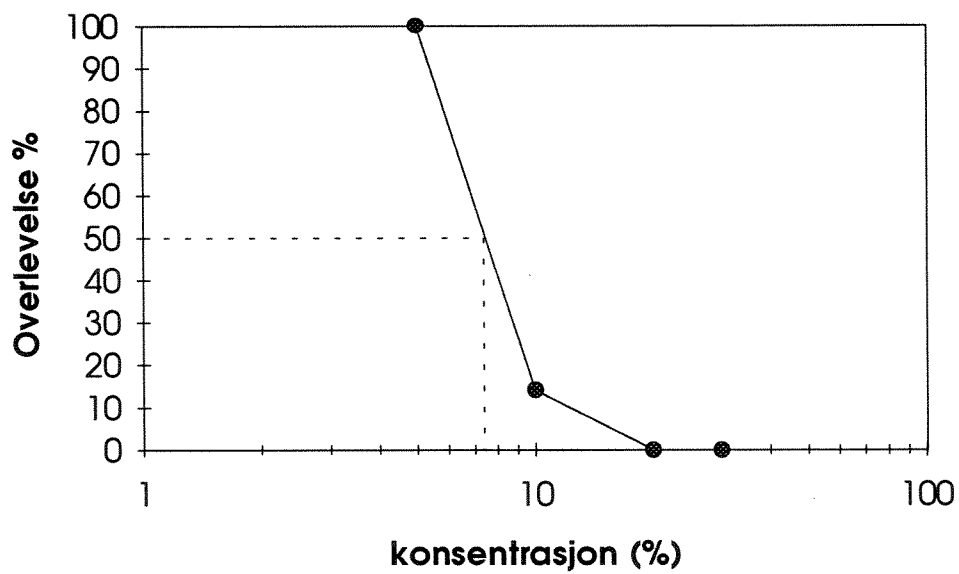
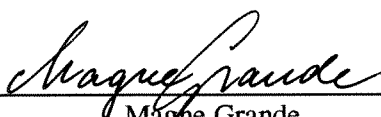


Fig. 1. Overlevelse av aure etter 96 timer i ulike konsentrasjoner av avløpsvann fra Jotun A.S., Manger

Testansvarlig:

  
 Magne Grande

## **Vedlegg 2.**

### **Analyse av Fordelingskoeffisient oktanol/vann**

## TESTRAPPORT

**Bioakkumuleringspotensial i vannprøver**  
(grad av fettløselighet)

**Prøve:** Avløpsvann merket: Jotun BO67/11  
SINTEF SI kode:1-93-101  
Oppdragsnr:114404-31  
Anm:Prøven ble mottatt 28.04.93.  
Dato:4.06.93

---

**Test data:**

- Bioakkumulering:** Substanser med fordelingskonstant oktanol/vann  $\log P_{ow} > 10^3$   
**definisjon** regnes som bioakkumulerbare.
- Metode:** Utarbeidet av Lars Renberg et al\*, Statens Naturvårdsverk,  
Stockholm.
- Analyse:** Ekstraksjon av lipofilt materiale fra prøven med sykloheksan  
ved pH ca.2.  
Separasjon av ekstraktet med tynnsjiktskromatografi (TLC) i en  
fraksjon med  $P_{ow}$ -verdi  $>10^3$  Standarder med  
kjente  $\log P_{ow}$ -verdier analyseres parallelt.  
Kvantifisering av ekstraherbare organiske komponenter i ekstraktet  
med gasskromatografi (GC). før og etter TLC-fraksjonering.  
(Kvantifisering gjøres i forhold til intern standard n-C<sub>18</sub>H<sub>38</sub>).
- Testbetingelser :** Kapillærkolonne, fused silica DB5, lengde 30m , indre diam. 0,24mm  
for GC Starttemp. 60°C, henstand 2 min., oppvarmingstemp. 5 °C/min.,  
sluttemp.300°C, henstand 8 min., intern standard n-C<sub>18</sub>H<sub>38</sub>.
- Testbetingelser :** TLC-plater RP-18 F<sub>254</sub> S art. 15490, 10 X 20 cm. med  
for TLC konsentreringssone, mobilfase acetone / vann 4:1, elueringsmiddel  
isopropanol / sykloheksan 1:1.  
Standarder : dimetylfталat  $\log P_{ow}=2,11$ , benzofenon  $\log P_{ow}=3,18$ ,  
2,5 di(bensoxazol-2-yl) tiofen  $\log P_{ow}=6,19$ .

---

**Resultater:**

Prøven inneholder 5,8 mg/l potensielt bioakkumulerbare substanser med  $P_{ow}>10^3$   
som er kromatograferbare. Dette er 3,9% av den ekstraherbare mengden (150 mg/l) før  
tynnsjikt.

Prøve	Fraksjon før tynnsjikt	$P_{ow} >10^3$
Jotun	150 mg/l	5,8 mg/l

Deteksjonsgrense før tynnsjikt: 0,03 mg./l Deteksjonsgrense etter tynnsjikt: 0,05 mg./l

Arne Lund Kvernheim  
Godkjent av: Arne Lund Kvernheim  
Gruppeleder

Berit Hølestøl  
Testansvarlig: Berit Hølestøl  
Prosjektmedarbeider: Grete Tveten

\*Lars Renberg et al. Chemisphere, 9(1980)683-691



13.10.89  
BHO/ras

VEDLEGG

#### METODE FOR BESTEMMELSE AV BIOAKKUMULERBARE SUBSTANSER

Vannprøven ble ekstrahert med cyklohexan ved pH#2. Emulsjon ble fjernet ved gjentatt nedfrysing og tining. Ekstraktene ble kombinert, vasket med vann (pH#2) og tørket med Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>. Ekstraktet ble oppkonsentrert til lite volum, analysert gasskromatografisk og videre fraksjonert på TLC i en fraksjon . Pow >10<sup>3</sup>.

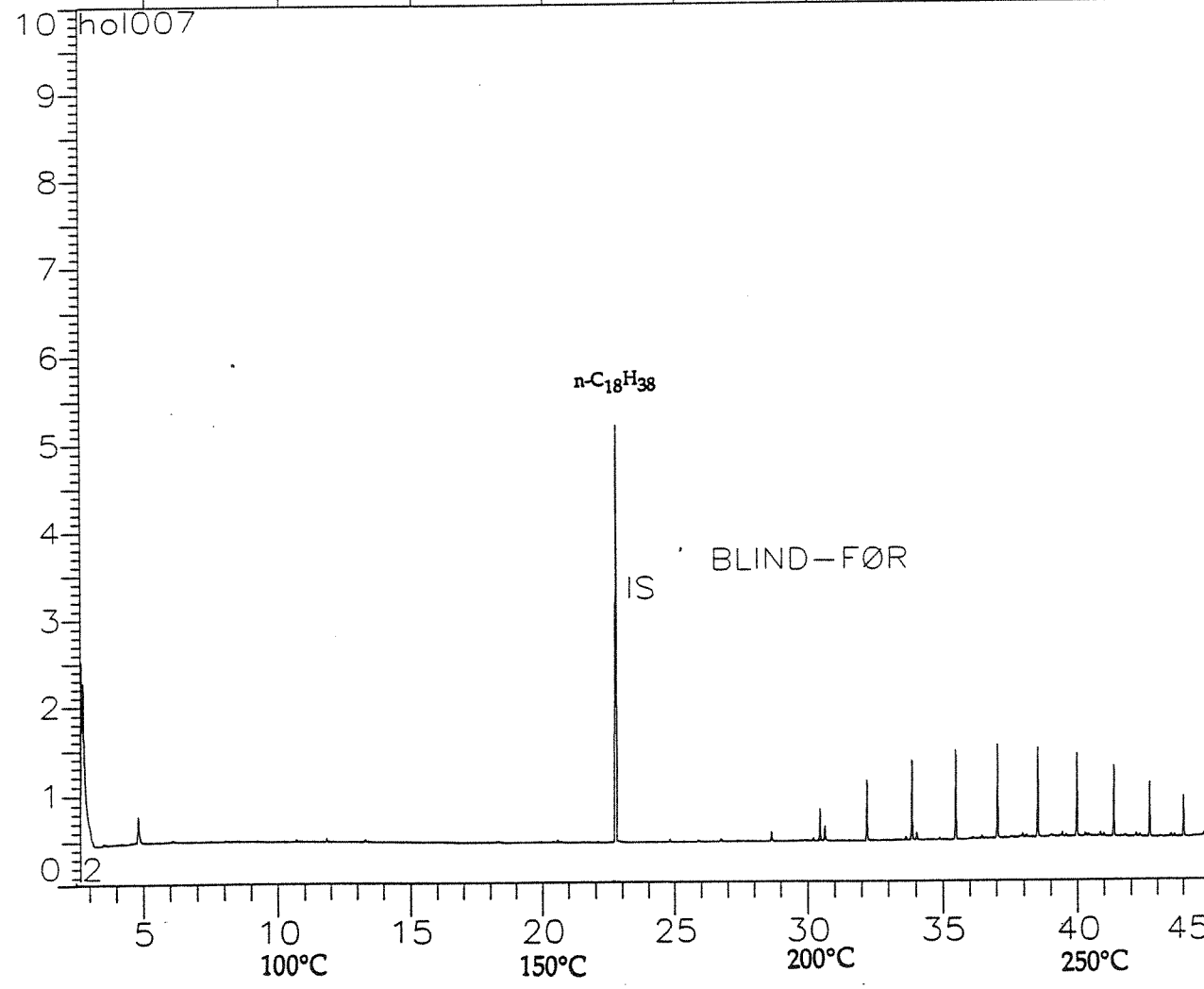
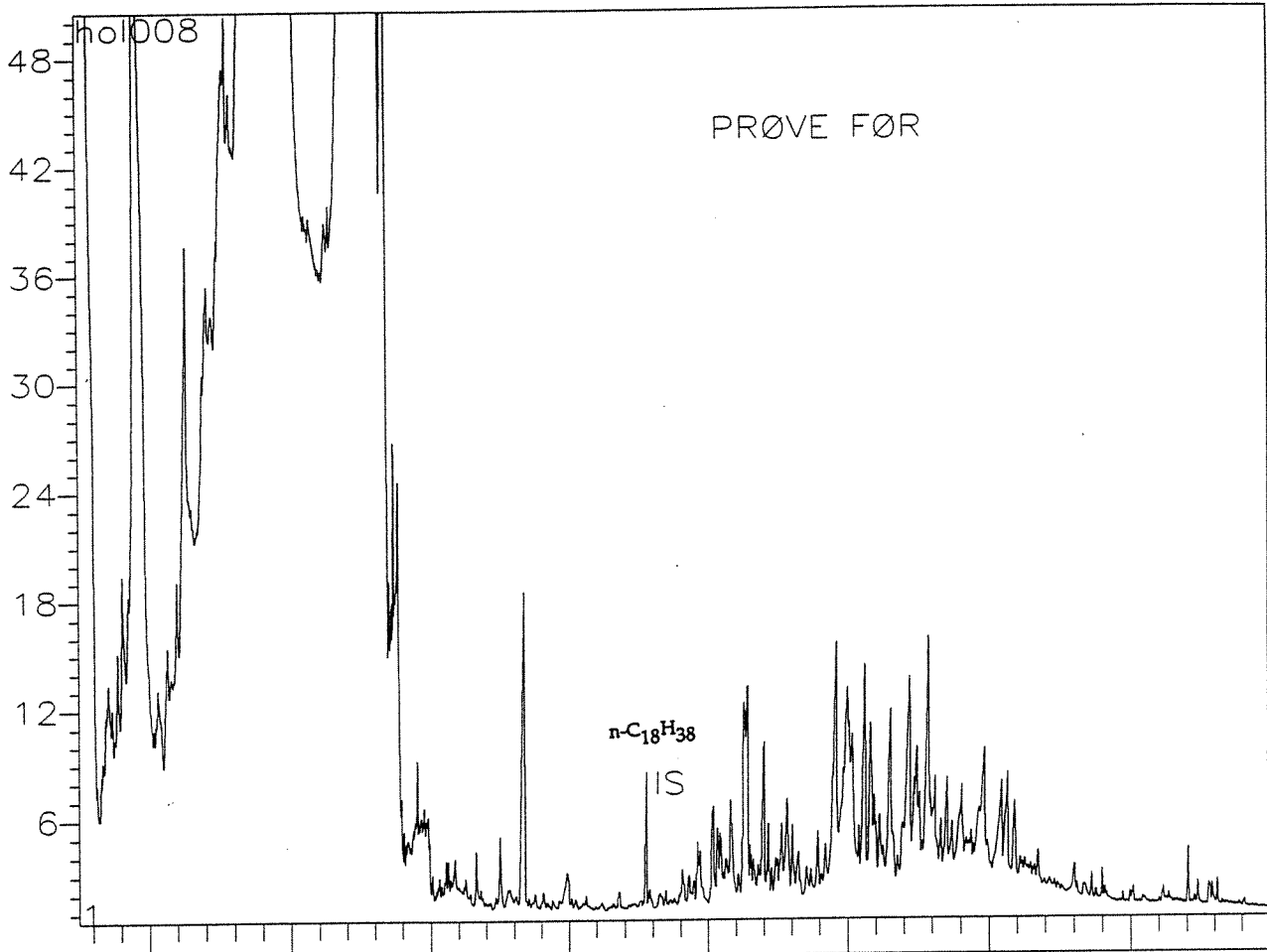
Lipofile eller bioakkumulerbare organiske forbindelser bestemmes ved tynnsjikt-kromatografi av cyklohexanekstrakter av vannprøvene. Metoden som er anvendt, er en tillempning av en metode utarbeidet av Lars Renberg, Statens Naturvårdsverk, Stockholm. Substanser med en fordelingskonstant oktanol/vann Pow >10<sup>3</sup> blir regnet som bioakkumulerbare. Fraksjonen blir utskrapet og ekstrahert med cyklohexan/isopropanol (1:1). De samlede cyclohexan/-isopropanol-ekstrakter ristes med vann (pH#2) og vann/isopropanolfasen skilles fra. Cyklohexanekstraktet vaskes med vann (pH#2) og tørkes med Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>. Ekstraktene dampes inn med nitrogentilføring på varmeblokk.

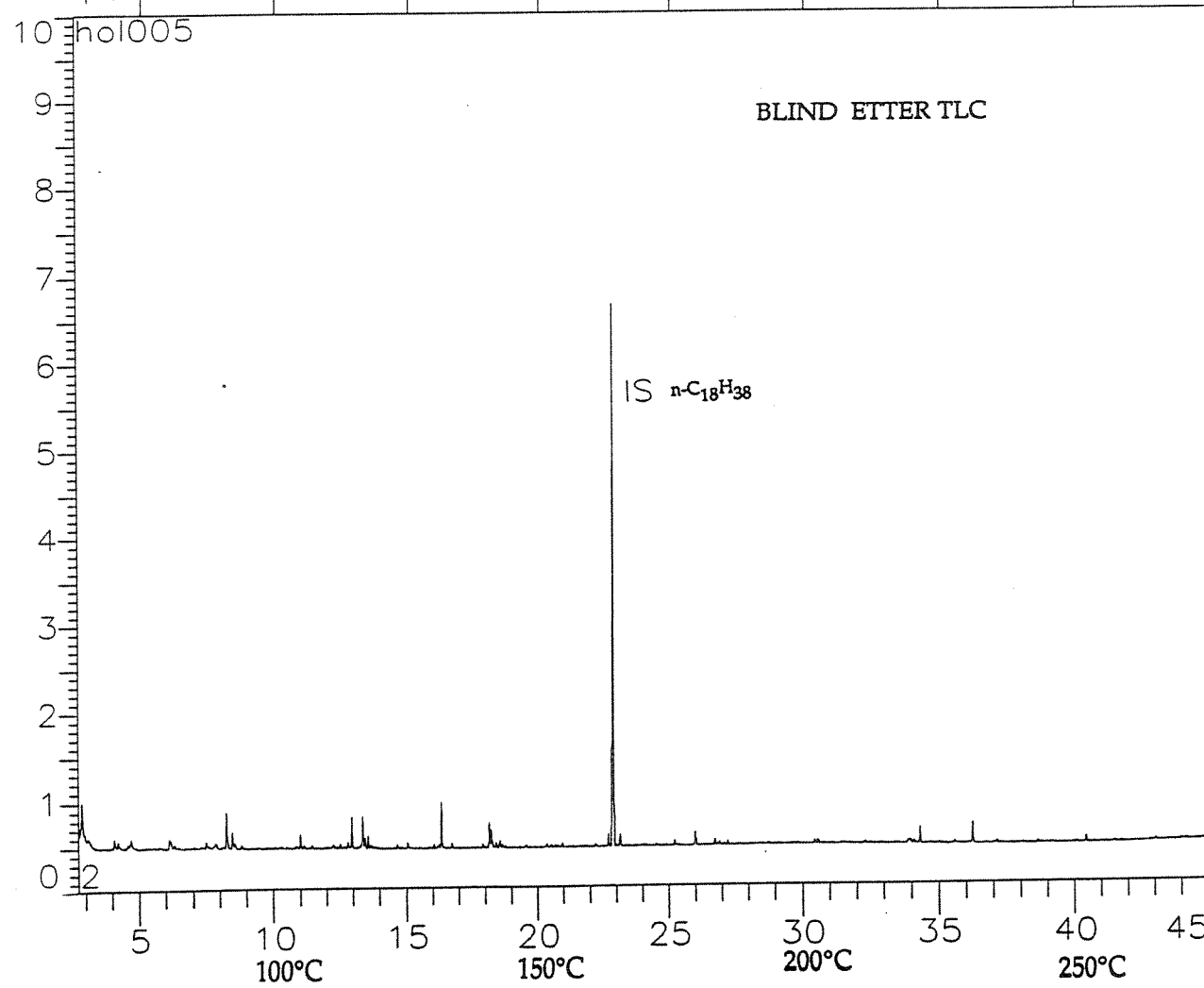
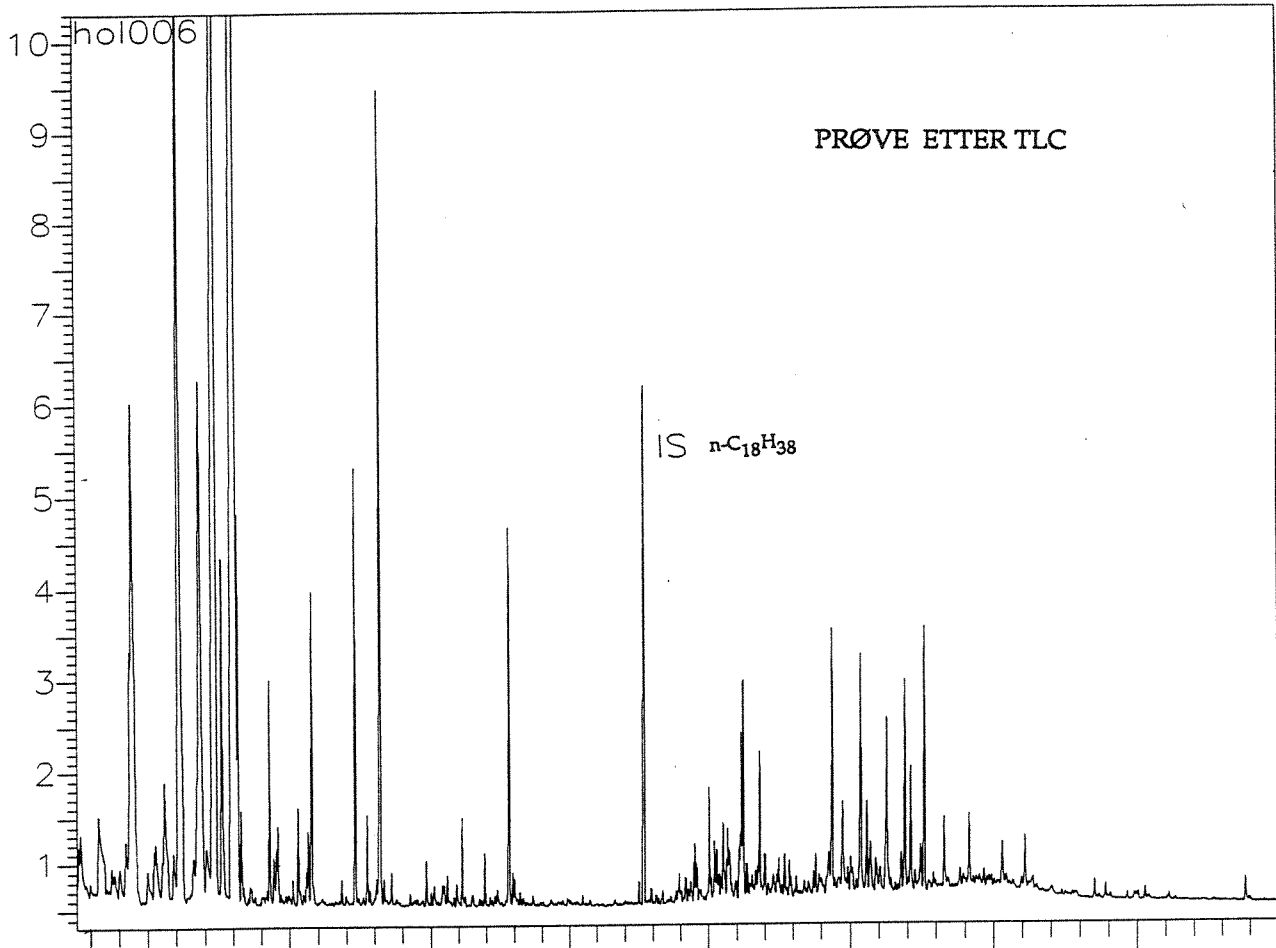
Den bioakkumulerbare mengden i hvert ekstrakt bestemmes ved gasskromatografisk analyse hvor den generelle flammeionisasjonsdetektoren (FID) benyttes. Arealet av de enkelte toppene relatert til en indre standard C<sub>18</sub> gir et mål for mengden organiske kromatograferbare forbindelser. Med kromatograferbare forbindelser menes i dette tilfelle organiske substanser med en molekylvekt opptil ca 500, som kan analyseres gasskromatografisk. Det tas forbehold om at vi ved beregningen antar at de bioakkumulerbare forbindelsene har lik repons med den utvalgte ytre standarden. Vår erfaring er at responsen med FID-detektor for ulike organiske forbindelser kan variere endel, opptil 50%. Blindprøve opparbeides og kjøres parallelt med prøveekstraktet.

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

program: Starttemp. 60°C, henstand 2 min  
oppv.hast 5°C/min  
sluttemp. 280°C, henstand 8 min.

standard: n-C<sub>18</sub> H<sub>38</sub>





## **Vedlegg 3.**

### **Nedbrytbarhetstester**

**Nedbrytbarhetstest**  
**OECD 301 F, ISO/DIS 9408**

**Test produkt:** Avløpsvann. Jotun A/S, blandprøve 24.-30.3.-93      **Lab. kode:** B067/11

**Testbetingelser:**

**Apparatur:** Manometrisk respirometer, WTW 2001  
**Nærings-**  
**løsning:** ISO/DIS 9408 Standard solutions. Ammonia: 1.3 mg N/L in dilution water  
**Inokulum:** Mikroorganismer fra laboratorieprodusert biologisk aktivt slam (Husmann unit) dyrket i OECD syntetisk kloakk, og kommunalt avløpsvann (luftet i 2 døgn, NS 4849). Blandingsuspensjon ble sentrifugert (2500 g) og resuspendert 2 ganger i BOD-næringssaltløsning for "utvasking" av løste stoffer. Tilsetning som STS: 20 mg/l i testløsningen.  
**Inkubasjon:** Temperatur: 20 ± 1 °C . Varighet: 28 days.  
**pH:** Start 7,4      Slutt: 7,6  
**Referense:** Anilin, 20 mg C/l. Lag-fase: 4 døgn  
**Anilin** Nedbrytning, DOC-reduksjon av anilin etter 14 døgn, 97 %.  
**Giftighets-**  
**kontroll:** Ingen giftvirkning eller signifikant forsinkelse i nedbrytning ble observert i en blanding av anilin og teststoffet ved den anvendte testkonsentrasjon.  
**Test periode:** 27. april til 25. mai 1993.

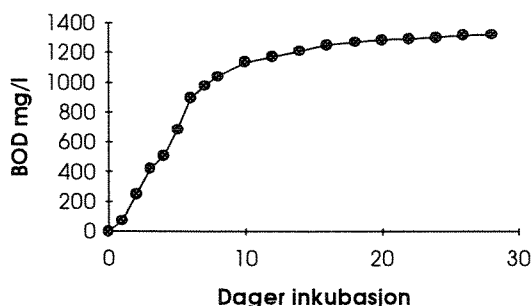
**Preparering av prøve:**

Avløpsvannet ble testet i 3 parallelle testflasker for bestemmelse av biokjemisk oksygenforbruk (BOD) og to parallelle ble analysert for løst karbon (DOC).

**Results: (Beregnete verdier i uforynnnet avløpsvann)**

Teststoff	Testkons.	BOD <sub>28</sub>	DOC <sub>0</sub>	DOC <sub>28</sub>	DOC-red.
Avløpsvann	10 %	1320 mg/l	610 mg/l	107 mg/l	82 %

BOD-kurve:



**Konklusjon:**

Hovedmengden av organisk stoff i avløpsvannet var biologisk lett nedbrytbart. Figuren viser en typisk BOD-kurve for rask omsetning, hvor ca. 75 % av oksygenforbruket var omsatt etter 7 døgn. En DOC reduksjon på 82 % etter 28 døgn tilfredsstiller de kriterier som OECD har satt for stoffer som er lett nedbrytbare.

Oslo, den 25. juni 1993

Testet av: Harry Efrimssen  
 Harry Efrimssen

Kvalitetsansvarlig: Torsten Kallqvist  
 Torsten Kallqvist

**ANALYSER OG RESULTATER:**

Test periode: 27. april til 25. mai 1993.

Test produkt: Avløpsvann. Jotun A/S, blandprøve 24.-30.3.-93

Lab. kode: B067/11

Testkonsentrasjon: 10 %

**Analyserte DOC verdier, mg/l:**

Medium	Flaske kode:	Startverdi	28 døgn
Inokulum	C1	0,7	0,7
"	C2	0,7	0,9
"	Cmv.	<b>0,70</b>	<b>0,80</b>
Teststoff.	A1	63,1	11,5
"	A2	61,2	11,5
"	Amv.	<b>62,15</b>	<b>11,50</b>
Korrigert startverdi		61,45	10,70
DOC-reduksjon etter 28 døgn nedbrytning			<b>82 %</b>

**BOD-verdier i testet konsentrasjon:**

Antall døgn	5	7	14	21	28
BOD mg/l	68	98	121	129	132

**Kommentarer:**

Biologisk oksygenforbruk (BOD) viste en rask utvikling og var over 90 % av BOD<sub>28</sub> etter 14 døgn. Høy DOC reduksjon bekrefter at mesteparten av det organisk materiale i avløpsvannet er lett nedbrytbart. Ingen signifikant nitrifikasjon ble påvist.

**Analyttiske betingelser:**

Biokjemisk oksygenforbruk i testløsningen er bestemt med oksygen probe, (WTW OXI 2000) målt ved start og slutt. Utviklingen er så beregnet på basis av manometeravlesning under inkubasjonstiden. DOC ble analysert på Dohrmann DC-190, med høy temperatur (680 °C) og platina som katalysator.

**REFERENSE:**

2. OECD Guideline for testing of chemicals, 301F Manometric respirometry. "Ready biodegradability". Adopted July 1992
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 respiromerter.

---

Norsk institutt for vannforskning  NIVA

Postboks 69 Korsvoll, 0808 Oslo  
Telefon: 22 18 51 00 Fax: 22 18 52 00

ISBN 82-577-2342-8