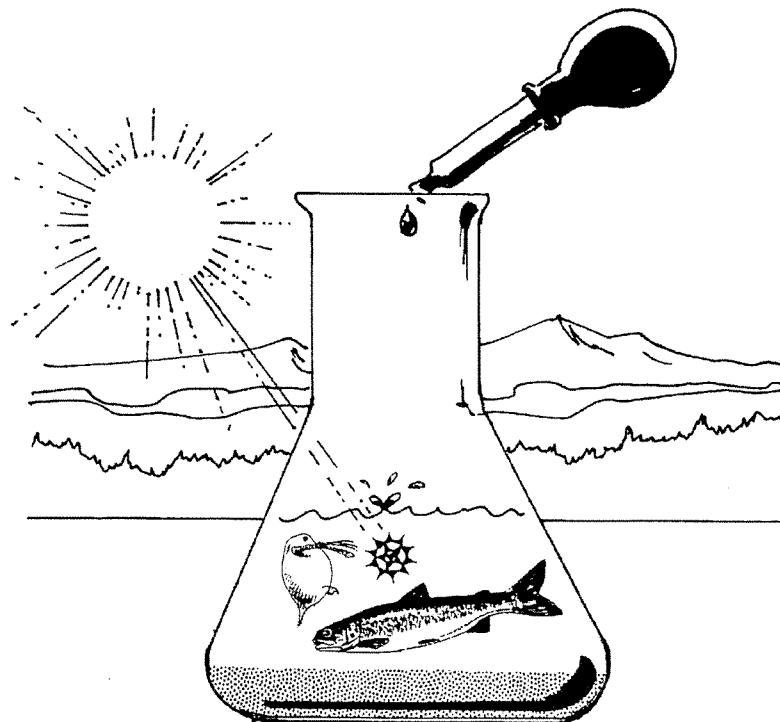




O-94274

Økotoksikologisk testing av avløpsvann fra

Borregaard Fine Chemicals AS VI



NIVA - RAPPORT

Norsk institutt for vannforskning  NIVA

Prosjektnr.: 94274	Udemr:
Løpenr.: 3217	Begr. distrib.:

Hovedkontor Postboks 173, Kjelsås 0411 Oslo Telefon (47) 22 18 51 00 Telefax (47) 22 18 52 00	Sørlandsavdelingen Televeien 1 4890 Grimstad Telefon (47) 37 04 30 33 Telefax (47) 37 04 45 13	Østlandsavdelingen Rute 866 2312 Ottestad Telefon (47) 62 57 64 00 Telefax (47) 62 57 66 53	Vestlandsavdelingen Thormøhlensgt 55 5008 Bergen Telefon (47) 55 32 56 40 Telefax (47) 55 32 88 33	Akvaplan-NIVA A/S Søndre Tollbugate 3 9000 Tromsø Telefon (47) 77 68 52 80 Telefax (47) 77 68 05 09
--	---	--	---	--

Rapportens tittel: Økotoksikologisk testing av avløpsvann fra Borregaard Fine Chemicals AS Rapport nr VI	Dato: 2.3.95	Trykket: NIVA 1995
	Faggruppe: Miljøtoksikologi	
Forfatter(e): Torsten Källqvist	Geografisk område: Østfold	
	Antall sider: 34	Opplag: 25

Oppdragsgiver: Borregaard Fine Chemicals	Oppdragsg. ref.: O.A. Linstad
---	----------------------------------

Ekstrakt:

En økotoksikologisk karakterisering er utført på to delavløpsstrømmer fra Borregaard Fine Chemicals, Sarpsborg. Karakteriseringen omfattet toksisitetstester med alger, dafnia og fisk, samt nedbrytbarhetstest. Innholdet av potensielt bioakkumulerbare komponenter ble undersøkt med en HPLC metode for bestemmelse av fordelingskoeffisient oktanol/vann (P_{ow}).

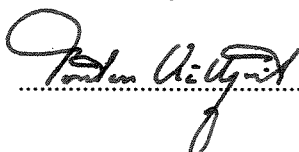
4 emneord, norske

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

4 emneord, engelske

1. Toxicity
2. Biological degradation
3. Bioaccumulation
4. Industrial waster water

Prosjektleder


.....

For administrasjonen


.....

ISBN82-577-2721-0

Norsk Institutt for Vannforskning NIVA

O-94274

Økotoksikologisk testing av avløpsvann

fra Borregaard Fine Chemicals AS

VI

Oslo 2.03.95

Prosjektleder: Torsten Källqvist

Medarbeidere: Harry Efraimsen

Magne Grande

Randi Romstad

Sigbjørn Andersen

BAKGRUNN	3
BESKRIVELSE AV PRØVER	3
TESTPROGRAM	3
RESULTAT	3
Toksisitet	3
Nedbrytbarhet	4
Bioakkumuleringspotensiale	4
VEDLEGG 1	6
VEDLEGG 2	13
VEDLEGG 3	18
VEDLEGG 4	23
VEDLEGG 5	28

BAKGRUNN

Borregaard Fine Chemicals henvendte seg i desember 1994 til NIVA for å få utført en økotoksikologisk karakterisering av to avløpsvannsprøver etter samme program som tidligere.

BESKRIVELSE AV PRØVER

Prøvene som ble testet var moderlut BFC 01/02 og BFC 04/05/06/07. Disse ble mottatt 15.12.94.

TESTPROGRAM

Programmet for karakterisering av prøven omfattet :

Toksisitetstester

Alger (<i>Selenastrum capricornutum</i>)	ISO/DIS 8692
Vannlopper (<i>Daphnia magna</i>)	ISO 6341
Fisk (ørret, <i>Salmo gairdeni</i>)	OECD 203, NS 4717

Nedbrytbarhetstest

Manometrisk respirasjonstest	ISO/DIS 9408, OECD 301F
------------------------------	-------------------------

Test av potensiell bioakkumulerbarhet

Fordelingskoeffisient oktanol/vann	OECD 117
------------------------------------	----------

RESULTAT

Toksisitet

Testrapporterer samlet i vedlegg. Resultatene av toksisitetstestene er sammenstilt i tabell 1.

Tabell 1. Resultat av toksisitetstester av moderlut MP-104. (EC₅₀= konsentrasjon som gir 50% hemming, LC₅₀= konsentrasjon som gir 50% dødelighet)

Prøve	Alger	Daphnia	Ørret
	EC ₅₀ (%)	LC ₅₀ (%)	LC ₅₀ (%)
BCF 01/02	19	24	14
BCF 04/05/06/07	11	8	2.2

I prøve BCF 01/02 ble det ikke observert dødelighet av ørret i løpet av 4 døgns eksponering i konsentrasjonen 10%. I 20% døde 4 av 7 fisker etter et døgn, og samtlige var døde etter 2 døgn. 4dLC₅₀-verdien ble beregnet til 14%. Også dafniene overlevde i 10% konsentrasjon, men i 18% var 6 av 20 dyr døde (immobiliserte) etter 2 døgn og samtlige døde ved konsentrasjonen 32%. 2dEC₅₀-verdien for immobilisering av dafnier var 21%. Veksthemming av algen *Selenastrum capricornutum* ble registrert ved 5.6% og høyere konsentrasjoner. EC₅₀-verdien for effekt på algenes veksthastighet var 19%.

Prøven BCF 04/05/06 var noe mer giftig for alle testorganismene. Fisken overlevde 4 døgn ved 1% konsentrasjon, men 4 av 7 døde ved 2.5%. I 5% døde 6 av 7 etter 2 døgn og samtlige var døde etter 3 døgns eksponering. LC₅₀-verdien ble beregnet til 2.2 %. Daphniene var noe mindre følsomme for dette avløpsvannet. 5% immobilisering ble observert ved 5.6% konsentrasjon og ved 10% var samtlige dyr døde eller immobiliserte etter 2 døgn. EC₅₀-verdien var 8%. På algene ble det registrert en gradvis økende veksthemming i konsentrasjonsområdet 0.56 - 10% og over denne konsentrasjonen øket effekten raskt. Hemmingen var nesten fullstendig ved 18%. EC₅₀-verdien var 11%.

Nedbrytbarhet

Resultater av nedbrytbarhetstestene er sammenfattet i tabell 2.

Prøven BCF 01/02 inneholdt ca. 3 g/l av løst organisk karbon. Nedbrytningen startet umiddelbart og viste et raskt forløp. DOC-reduksjonen var 95% etter 28 døgn. Forløpet av oksygenforbruk tyder på at mesteparten av nedbrytningen skjedde i løpet av den første uken. Forholdet BOD₂₈/COD (92%) verifiserer den høye DOC-reduksjonen.

I prøven BCF 04/05/06 var karboninnholdet 2.3 g/l. Nedbrytningsforløpet var raskt og oksygenforbruket stagnerte etter ca. 15 døgn. Både DOC-reduksjonen (67%) og forholdet BOD₂₈/COD (62%) viste noe lavere nedbrytbarhet enn i prøven BCF 01/02.

Tabell 2. Løst organisk karbon (DOC), biokjemisk oksygenforbruk (BOD₂₈), kjemisk oksygenforbruk (COD) og reduksjon av DOC ved nedbrytbarhetstesten (mg/l).

Prøve	DOC	DOC-red.	BOD ₂₈	COD
BCF 01/02	3020	95%	10100	11000
BCF 04/05/06	2290	67%	4720	7600

Bioakkumuleringspotensiale

Innehold av potensielt bioakkumulerende organiske stoffer er undersøkt ved en HPLC-metode for bestemmelse av fordelingskoeffisient oktanol/vann. Vurderingen av bioakkumuleringspotensiale bygger på at bioakkumulering er korrelert med fettløselighet.

Stoffer med oktanol/vannfordeling over 1000 ($\log P_{ow} > 3$) regnes som potensielt bioakkumulerbare.

Ved analysen ekstraheres den organiske fraksjonen i et løsemiddel og opparbeides for analyse på en HPLC-kolonne. Ved eluering av kolonnen fremkommer ulike komponenter som kan detekteres med UV eller RI detektor. Komponentenes P_{ow} bestemmes fra retensjonstiden ved sammenligning med en rekke referansestoffer med kjent P_{ow} . Med denne metoden kan P_{ow} til enkeltkomponenter i avløpsvann bestemmes, men uten at disse blir kjemisk identifisert eller kvantifisert.

Prøven BFC 01/02 ble injisert direkte og som ekstrakt i syklohexan/dietyleter på en HPLC-kolonne. Begge analysene viste et band av ikke-separerbare topper som representerer stoffer med $\log P_{ow}$ fra 1.3-3.3 (vannprøve) og 0.1-4.2 (ekstrakt). For de fleste komponentene var $\log P_{ow}$ -verdiene lavere enn 3, men noen komponenter hadde altså en fettløselighet som gjør at de vurderes som potensielt bioakkumulerbare.

I prøve BFC 04/05/06/07 ble det identifisert 6 topper som representerer komponenter med $\log P_{ow}$ -verdier fra 0.8 til 2.4. Ingen komponenter med $\log P_{ow}$ over 3 ble funnet.

VEDLEGG 1

Toksisitetstest med alger

Teststoff: BFC 01/02 Målestasjon

Lab. kode: B164/1

Testmetode: ISO 8692, OECD 201: Alga growth inhibition test
Organisme: *Selenastrum capricornutum* NIVA CHL1
Testparameter: Veksthastighet fra start til 72 timer
Stamkultur: Semi-kontinuerlig i 10% Z8 vekstmedium (Staub 1961)
Start dato: 20.12. 1994
Forbehandling av prøve: Filtrering gjennom 0.45 µm membranfilter
Konsentrasjoner: 3.2, 5.6, 10, 18, 32 og 56 %
Test medium: ISO DIS 8692
Inkuberingsutstyr: Gyngebord
Dyrkingsflasker: 100 ml ståkolber med 50 ml medium
Lys: 70 µE m² s⁻¹, kontinuerlig fra dagslys-type lysstoffrør
Temperatur: 21.0-21.4 °C
pH i kontroll Start : 8.1 Slutt: 8.0
pH i høyeste konsentrasjon Start : 5.9 Slutt: 4.6
Vekstmåling: Partikkeltelling med Coulter Multisizer
Beregning av EC₅₀ * Grafisk fra plot av respons mot log konsentrasjon
Beregning av NOEC ** t-test

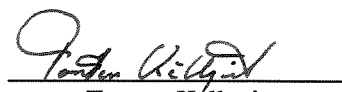
Resultater: Celletetthet på hvert målepunkt, det beregnede areal under vekstkurve og veksthastighet i hver kolbe er vist på vedlagt skjema. Middelerverdier for kontroller og ulike konsentrasjoner av teststoff er listet lengst ned på skjemaet. Vekstkurver for hver konsentrasjon av teststoffet er vist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

Parameter	Enhet	EC ₅₀	95% konf. int.	EC ₁₀	95% konf. int.	NOEC
Veksthastighet	%	19	-	<3.2		<3.2

Testen utført av:


Randi Romstad

Testansvarlig:


Torsten Kjøllqvist

* EC₅₀ = Den konsentrasjon som gir 50% reduksjon av testparameteren i forhold til kontrollkulturer

** NOEC = Høyeste testede konsentrasjon uten signifikant effekt

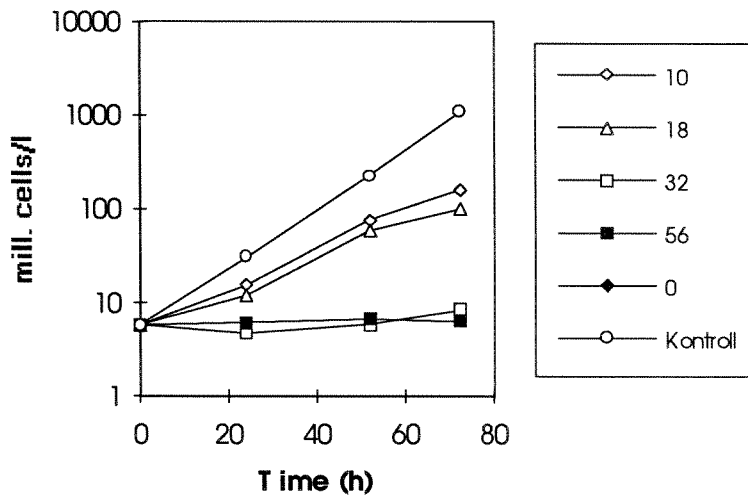


Fig. 1. Vekstkurver for *Selenastrum capricornutum* i ulike konsentrasjoner av BFC 01/02 Målestasjon

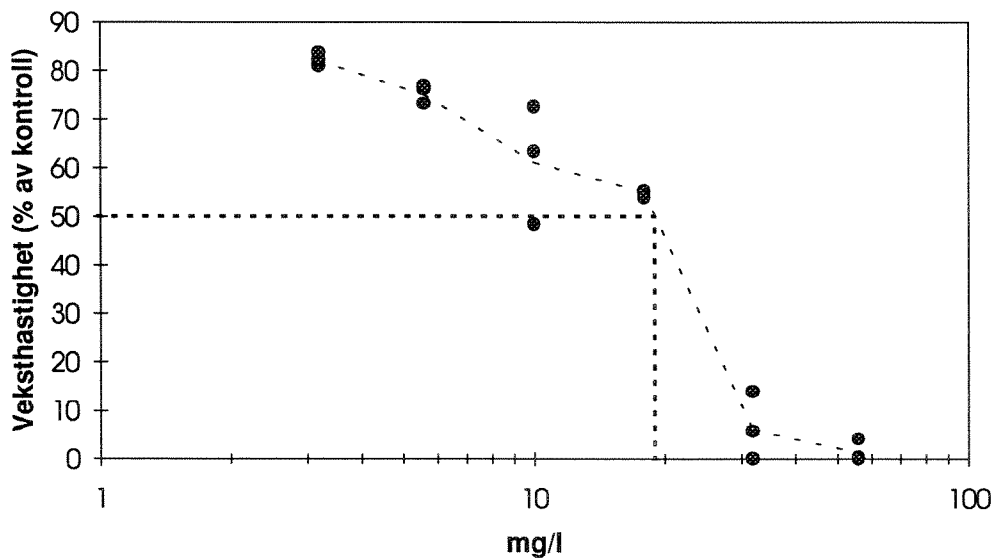


Fig. 2. Effekt av BFC 01/02 Målestasjon på veksthastigheten til *Selenastrum capricornutum*.

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.

TEST:>> ISO 8692

Dato: 20.12.94

TESTSTOFF: BFC 01/02 Målestasjon

Lab. kode: B164/1

TEST ALGE: *Selenastrum capricornutum*

Medium: ISO 8692

INOKULUM: 5.8 mill. celler/l

Kons.	Hours: mg/l	Dag 1	Dag 2	Dag 3	Areal	Areal %	V. hast.	V. hast %
		24 mill/l	52 mill/l	72.5 mill./l				
3.2	"	21	108	397	6883	40	1.40	81
3.2	"	24	103	425	7127	42	1.42	82
3.2	"	21	120	460	7820	46	1.45	84
5.6	"	19	90	308	5483	32	1.31	76
5.6	"	17	88	318	5485	32	1.33	77
5.6	"	17	53	265	4093	24	1.27	73
10	"	15	73	72	2547	15	0.83	48
10	"	15	77	158	3526	21	1.09	63
10	"	16	81	256	4653	27	1.25	73
18	"	12	58	103	2423	14	0.95	55
18	"	12	61	104	2506	15	0.96	55
18	"	12	58	96	2352	14	0.93	54
32	"	4.6	6.3	8	1	0	0.10	6
32	"	5.2	7.7	12.0	94	1	0.24	14
32	"	4.5	3.7	5	-90	-1	-0.03	-2
56	"	6	5.8	5.9	6	0	0.01	0
56	"	5.9	5.8	7.2	17	0	0.07	4
56	"	6.6	8.6	5.7	88	1	-0.01	0
Kontroll		29	236	1105	17452	103	1.74	101
		29	218	1024	16186	95	1.71	99
		30	221	1070	16756	98	1.73	100
		31	236	1057	17012	100	1.72	100
		32	231	1112	17481	103	1.74	101
		32	232	1082	17198	101	1.73	100

MIDDELVERDIER

mg/l

3.20 Mv.		22.00	110.33	427.33	7277	42.77	1.42	82.31
St. d.		1.41	7.13	25.77	397	2.33	0.02	1.15
5.60 Mv.		17.67	77.00	297.00	5020	29.50	1.30	75.31
St. d.		0.94	16.99	22.99	656	3.85	0.03	1.52
10.00 Mv.		15.33	77.00	162.00	3576	21.02	1.06	61.35
St. d.		0.47	3.27	75.17	860	5.06	0.17	10.01
18.00 Mv.		12.00	59.00	101.00	2427	14.27	0.95	54.71
St. d.		0.00	1.41	3.56	63	0.37	0.01	0.68
32.00 Mv.		4.77	5.90	8.37	1.87	0.01	0.10	5.96
St. d.		0.31	1.66	2.76	75.07	0.44	0.11	6.39
56.00 Mv.		6.17	6.73	6.27	36.95	0.22	0.02	1.38
St. d.		0.31	1.32	0.66	36.13	0.21	0.03	1.97
Kontroll	Mv.	30.50	229.00	1075.00	17014	100.00	1.73	100.00
	St. d.	1.26	7.02	29.63	447	2.62	0.01	0.53
	Variasjonskoeffisient i kontroller (%):				2.62		0.53	

Norsk
Institutt
for
Vannforskning

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

Alger, veksthemmingstest *Selenastrum capricornutum*

Teststoff: BFC 04/05/06/07

Lab. kode: B164/2

Testmetode: ISO 8692, OECD 201: Alga growth inhibition test
Organisme: *Selenastrum capricornutum* NIVA CHL1
Testparameter: Veksthastighet fra start til 72 timer
Stamkultur: Semi-kontinuerlig i 10% Z8 vekstmedium (Staub 1961)
Start dato: 20.12. 1994
Forbehandling av prøve: Filtrering gjennom 0.45 µm membranfilter. Justert til pH 7.9-8.2 etter fortykning
Konsentrasjoner: 0.56, 1.0, 1.8, 3.2, 5.6, 10 og 18 %
Test medium: ISO DIS 8692
Inkuberingsutstyr: Gyngebord
Dyrkingsflasker: 100 ml ståkolber med 50 ml medium
Lys: 70 µE m² s⁻¹, kontinuerlig fra dagslys-type lysstoffør
Temperatur: 21.0-21.4 °C
pH i kontroll Start : 8.1 Slutt: 8.0
pH i høyeste konsentrasjon Start : 8.1 Slutt: 8.2
Vekstmåling: Partikkeltelling med Coulter Multisizer
Beregning av EC₅₀* Grafisk fra plot av respons 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. Middelerverdier 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	EC ₅₀	95% konf. int.	EC ₁₀	95% konf. int.	NOEC
Veksthastighet	%	11	-	1.0	-	<0.56

Testen utført av:


Randi Romstad

Testansvarlig:


Torsten Källqvist

* EC₅₀ = Den konsentrasjon som gir 50% reduksjon av testparameteren i forhold til kontrollkulturer

** NOEC = Høyeste testede konsentrasjon uten signifikant effekt

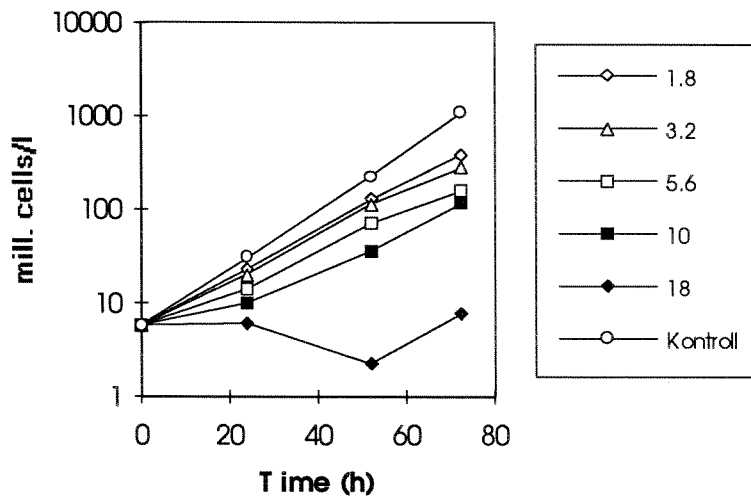


Fig. 1. Vekstkurver for *Selenastrum capricornutum* i ulike konsentrasjoner av BFC 04/05/06/07

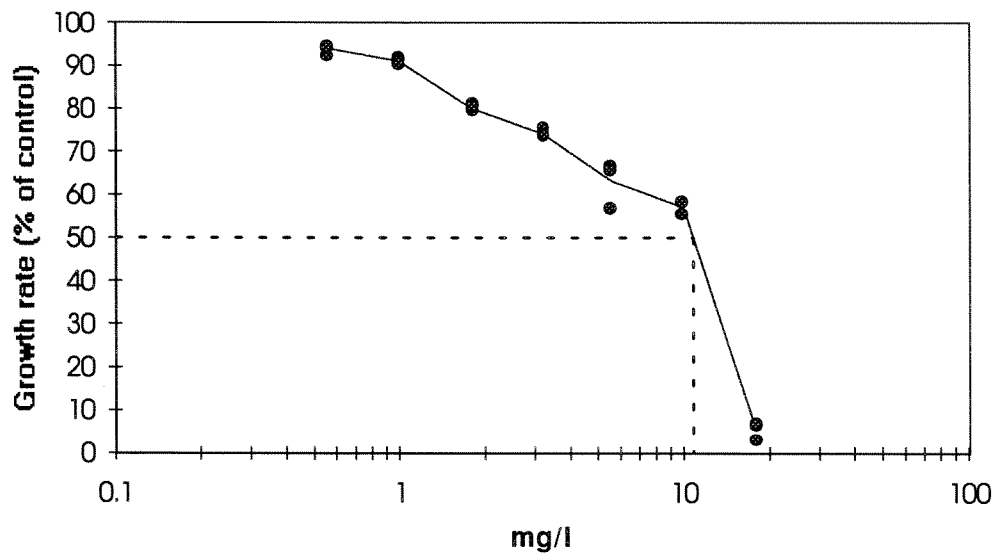


Fig. 2. Effekt av BFC 04/05/06/07 på veksthastigheten til *Selenastrum capricornutum*.

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.

TEST: ISO 8692
 TESTSTOFF: BFC 04/05/06/07
 TEST ALGE: *Selenastrum capricornutum*
 INOKULUM: 5.8 mill. celler/l

Dato: 20.12.94
 Lab. kode: B164/2
 Medium: ISO 8692

Kons.	Hours: %	Dag 1	Dag 2	Dag 3	Areal	Areal %	V. hast.	V. hast %
		24 mill/l	52 mill/l	72.5 mill./l				
0.56	"	25	182	788	12790	75	1.63	94
0.56	"	29	135	710	10954	64	1.59	92
0.56	"	31	185	808	13223	78	1.63	95
1	"	30	158	698	11415	67	1.59	92
1	"	30	175	678	11622	68	1.58	91
1	"	28	173	652	11255	66	1.56	90
1.8	"	20	127	366	7000	41	1.37	79
1.8	"	26	121	402	7380	43	1.40	81
1.8	"	24	134	391	7530	44	1.39	81
3.2	"	21	120	300	6180	36	1.31	76
3.2	"	20	116	269	5739	34	1.27	73
3.2	"	20	107	274	5572	33	1.28	74
5.6	"	16	75	111	3022	18	0.98	57
5.6	"	14	74	187	3724	22	1.15	67
5.6	"	13	63	176	3319	20	1.13	65
10	"	11	38	121	2097	12	1.01	58
10	"	9.8	34	122	1979	12	1.01	58
10	"	9.6	36	105	1848	11	0.96	55
18	"	6.6	2.7	8	-32	0	0.11	6
18	"	6	2.7	8.2	-45	0	0.11	7
18	"	5.8	1.4	6.8	-96	-1	0.05	3
Kontroll		29	236	1105	17452	103	1.74	101
		29	218	1024	16186	95	1.71	99
		30	221	1070	16756	98	1.73	100
		31	236	1057	17012	100	1.72	100
		32	231	1112	17481	103	1.74	101
		32	232	1082	17198	101	1.73	100

MIDDELVERDIER

%

0.56 Mv.	28.33	167.33	768.67	12322.43	72.42	1.62	93.55
St. d.	2.49	22.90	42.28	983.45	5.78	0.02	1.07
1.00 Mv.	29.33	168.67	676.00	11430.93	67.19	1.58	91.12
St. d.	0.94	7.59	18.83	150.24	0.88	0.01	0.53
1.80 Mv.	23.33	127.33	386.33	7303.52	42.93	1.39	80.39
St. d.	2.49	5.31	15.06	223.00	1.31	0.01	0.75
3.20 Mv.	20.33	114.33	281.00	5831	34.27	1.28	74.29
St. d.	0.47	5.44	13.59	256	1.51	0.02	0.91
5.60 Mv.	14.33	70.67	158.00	3354.93	19.72	1.09	62.80
St. d.	1.25	5.44	33.54	288.03	1.69	0.08	4.46
10.00 Mv.	10.13	36.00	116.00	1974.57	11.61	0.99	57.32
St. d.	0.62	1.63	7.79	101.66	0.60	0.02	1.32
18.00 Mv.	6.13	2.27	7.67	-57.88	-0.34	0.09	5.28
St. d.	0.34	0.61	0.62	27.83	0.16	0.03	1.59
Kontroll Mv.	30.50	229.00	1075.00	17014.10	100.00	1.73	100.00
St. d.	1.26	7.02	29.63	446.60	2.62	0.01	0.53
Variasjonskoeffisient i kontroller (%):					2.62	0.53	

VEDLEGG 2

Toksisitetstest med dafnier



Teststoff: BFC 01/02

Lab. kode: B164/1

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 næringssaltløsning.

Testperiode 19.12 - 21.12.94

Fortynningsmedium Elendt M7.

Testkonsentrasjoner 1.8, 3.2, 5.6, 10, 18, 32, 56%

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

Temperatur 20±0.5°C

pH i kontroll Start: 7.9 Slutt: 7.8

pH i høyeste kons. Start: 7.7 Slutt: 7.7

Oksygenmetning, 48 t Kontroll: 8.1 ppm 56% kons.: 5.1 ppm

Lys 700 lux

Beregning av EC₅₀ Manuell beregning

Referansestoff: Kaliumdikromat: 24t EC₅₀= 1.67 mg/l

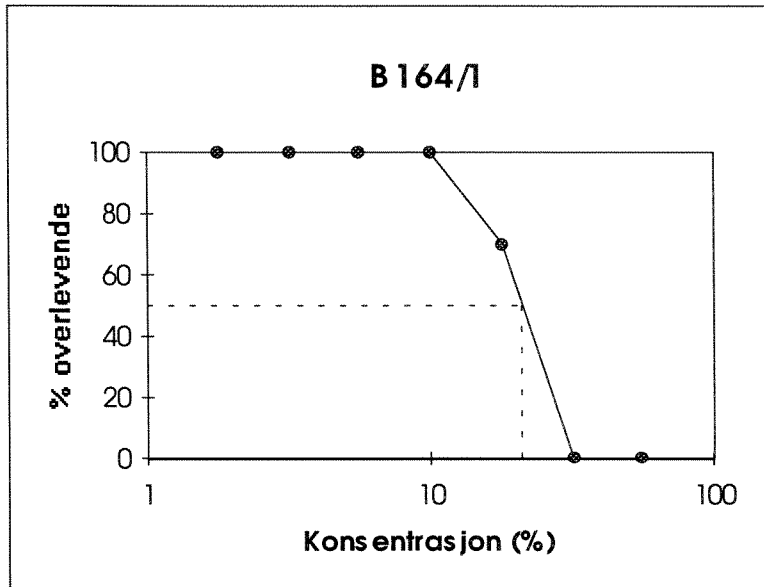
Resultater:

Parameter	Enhet	24 timer			48 timer		
		EC ₅₀	95% konf. int.	EC ₁₀	EC ₅₀	95% konf. int.	EC ₁₀
Immobilisering	%	24			21	-	

Kommentarer:

Utført av: Randi Romstad
Randi Romstad

Testansvarlig: Torsten Källqvist
Torsten Källqvist



Konsentrasjon	Antall dyr	Immobiliserte 24 tim.	Immobiliserte 48 tim.
Kontroll	20	0	0
1.8 %	20	0	0
3.2 %	20	0	0
5.6 %	20	0	0
10 %	20	0	0
18 %	20	0	6
32 %	20	19	20
56 %	20	20	20

Observerte immobiliserte *Daphnia magna* etter 24 og 48 timer i kontroller og ulike konsentrasjoner av BFC 01/02 målestasjon.



Akutt toksisitet *Daphnia magna*

Teststoff: **BFC 04/05/06/07**

Lab. kode: **B164/2**

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 næringssaltløsning.

Testperiode 19.12 - 21.12.94

Fortynningsmedium Elendt M7.

Testkonsentrasjoner 1.8, 3.2, 5.6, 10, 18 %

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

Temperatur 20±0.5°C

pH i kontroll Start: 7.9 Slutt: 7.8

pH i høyeste kons. Start: 8.0 Slutt: 8.0

Oksygenmetning, 48 t Kontroll: 8.1 ppm 100% kons.:6.2 ppm

Lys 700 lux

Beregning av EC₅₀ Manuell beregning

Referansestoff: Kaliumdikromat: 24t EC₅₀= 1.67 mg/l

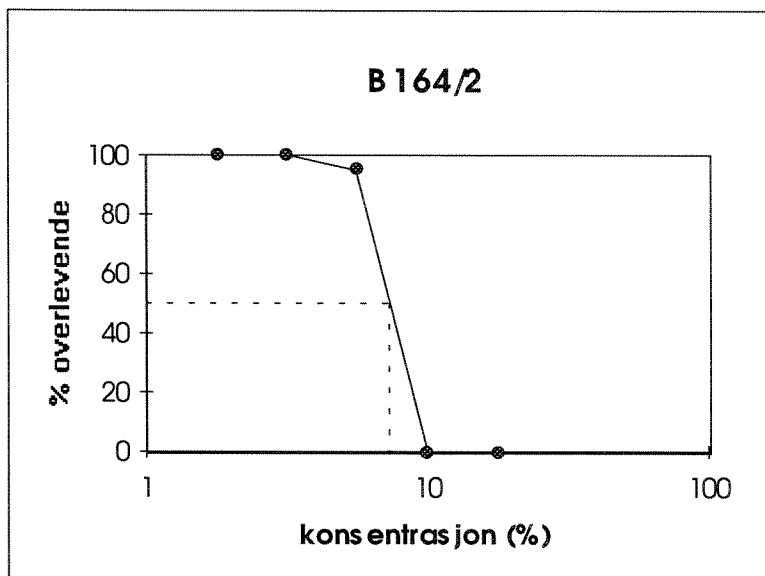
Resultater:

Parameter	Enhet	24 timer			48 timer		
		EC ₅₀	95% konf. int.	EC ₁₀	EC ₅₀	95% konf. int.	EC ₁₀
Immobilisering	%	8	-		7.3	-	

Kommentarer:

Utført av: Randi Romstad
Randi Romstad

Testansvarlig: Torsten Källqvist
Torsten Källqvist



Konsentrasjon	Antall dyr	Immobiliserte 24 tim.	Immobiliserte 48 tim.
Kontroll	20	0	0
1.8 %	20	0	0
3.2 %	20	0	0
5.6 %	20	0	1
10 %	20	6	20
18 %	20	20	20

Observert immobiliserte *Daphnia magna* etter 24 og 48 timer i kontroller og ulike konsentrasjoner av BFC 04/05/06/07.

VEDLEGG 3

Toksisitetstest med fisk

Akutt toksisitet - fisk *Salmo trutta*

Teststoff: Avløpsvann Borregaard Fine Chemicals,
BFC 01/02

Lab. kode: B164/1

Testmetode

Testen er utført i overensstemmelse med "OECD Guidelines for testing of chemicals" (No. 203; Fish, acute toxicity test) og en noe modificert 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 (1.33 g/l).

Testorganisme

Årsyngel (0+) av ørret (*Salmo trutta*), med middelvekt 1.44 g og -lengde 5.4 cm. Fisken var hentet fra OFAs oppdrettsanlegg i Sørkedalen.

Utførelse

Forsøket ble utført i glassakvarier med 14 l vann og 7 fisk i hver konsentrasjon av avløpsvann. Avløpsvannet ble fortynnet direkte i testkarene til de aktuelle konsentrasjoner. pH ble justert til 6.6-6.8 ved tilsetning av 1 N HCl etter fortynning. Testfiskene ble overført til ny løsning hvert døgn (semistatisk metode) og forsøket pågikk i 4 døgn. Konsentrasjonen al løst oksygen ved vannskift var 83-85% av metningskonsentrasjonen. 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 9.1-10.3 °C.

Tabell 1. Noen kjemiske data for vann benyttet i test med ørret (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 LC₅₀-verdien avsatt (Den konsentrasjon som dreper 50% av forsøksfisken i løpet av 4 døgn).

4d LC₅₀-verdien ble 14%

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

Konsentrasjon (%)	Timer			
	24	48	72	96
0	0	0	0	0
10	0	0	0	0
20	57	100	100	100

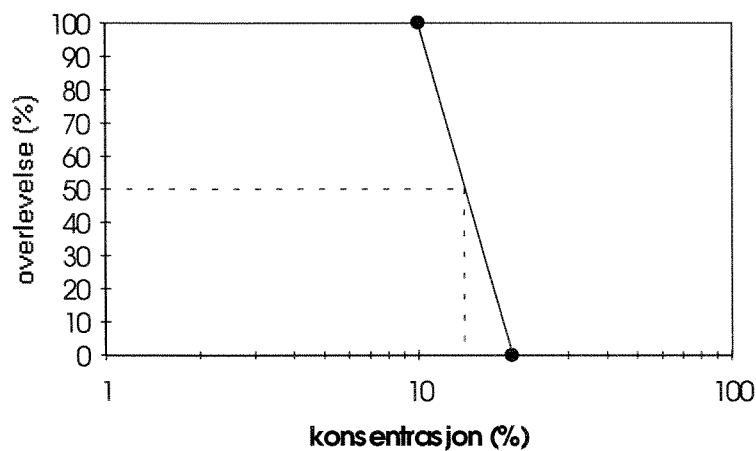


Fig. 1. Overlevelse av ørret etter 96 timer i ulike konsentrasjoner av avløpsvann BFC 01/02, Målestasjon

Testen utført av:

Sigbjørn Andersen
Sigbjørn Andersen

Testansvarlig:

Magne Grande
Magne Grande

Teststoff: Avløpsvann Borregaard Fine Chemicals,
BFC 04/05/06/07

Lab. kode: B164/2

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 (1.33 g/l).

Testorganisme

Årsyngel (0+) av ørret (*Salmo trutta*), med middelvekt 1.44 g og -lengde 5.4 cm. Fisken var hentet fra OFAs oppdrettsanlegg i Sørkedalen.

Utførelse

Forsøket ble utført i glassakvarier med 14 l vann og 7 fisk i hver konsentrasjon av avløpsvann. Avløpsvannet ble fortynnet direkte i testkarene til de aktuelle konsentrasjoner. pH i løsningene varierte fra 5.32-6.62. Testfiskene ble overført til ny løsning hvert døgn (semistatisk metode) og forsøket pågikk i 4 døgn. Konsentrasjonen av løst oksygen var 85-88% av metningsnivået målt ved vannskift i akvariene. 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 9.1-10.3 °C.

Tabell 1. Noen kjemiske data for vann benyttet i test med laks (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 LC₅₀-verdien avsatt (Den konsentrasjon som dreper 50% av forsøksfisken i løpet av 4 døgn).

4d LC₅₀-verdien ble 2.2%

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

Konsentrasjon (%)	Timer			
	24	48	72	96
0	0	0	0	0
1.0	0	0	0	0
2.5	14	29	43	57
5	0	86	100	100
6	29	100	100	100
20	100	100	100	100

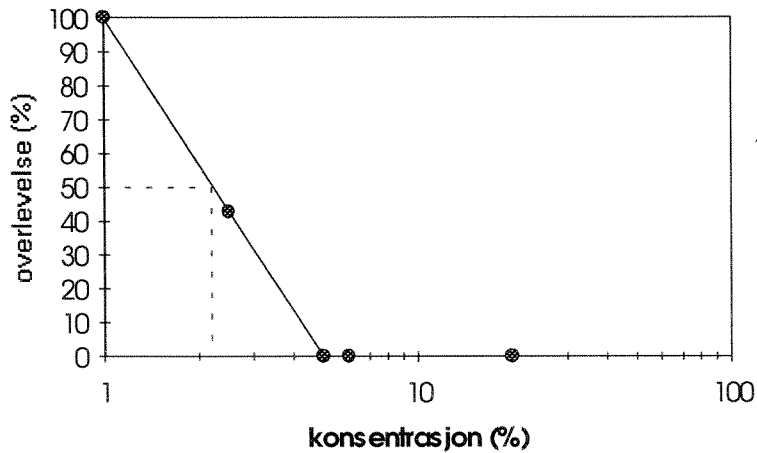


Fig. 1. Overlevelse av ørret etter 96 timer i ulike konsentrasjoner av avløpsvann BFC 04/05/06/07.

Testen utført av:

Sigbjørn Andersen
 Testansvarlig:
 Sigbjørn Andersen

Magne Grande
 Magne Grande

VEDLEGG 4

Nedbrytbarhetstest

Norsk
Institutt
for
Vannforskning

Postboks 173 Kjelsås
0411 Oslo
Tel: 22 18 51 00
Fax: 22 18 52 00

Nedbrytbarhet OECD 301F



Test produkt: BFC 01/02 Målestasjon

Lab. kode: B164/1

Testbetingelser:

Apparatur: Manometrisk respirometer, WTW 2001
**Nærings-
løsning:** ISO/DIS 9408 Standard saltløsninger. Ammonia: 1.3 mg N/L i preparert test-
løsning.
Inokulum: Mikroorganismer fra laboratorieprodusert biologisk aktivt slam (Husmann unit)
dyrket i OECD syntetisk kloakk, supplert med kommunalt avløpsvann (luftet i 2
døgn, NS 4849). Blandingsuspensjon ble sentrifugert (2500 G) og resuspendert
2 ganger i BOD-nærings saltløsning for "utvasking" av løste stoffer.
Tilsetning som STS: 30 mg/l i testløsningen.
Inkubasjon: Temperatur: 20 ± 1 °C. Varighet: 28 dager.
pH: Start 7,5 Slutt: 7,1
Referense: Anilin, 20 mg C/l.
**Giftighets-
kontroll:** Anilin, 20 mg C/l + 1 % avløpsvann i testmedium
Test periode: 16. des. 1994 til 13. jan. 1995.

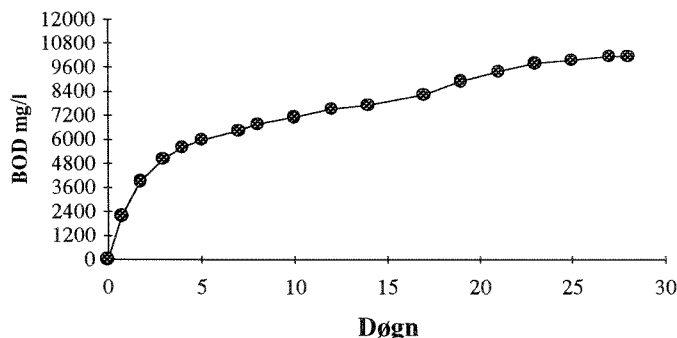
Preparering av prøve:

Avløpsvannet ble testet ved 1,0 og 2,0 % konsentrasjon i parallelle testflasker for bestemmelse av løst karbon (DOC), og ved 1 % for bestemmelse av biokjemisk oksygenforbruk (BOD).

Resultater:

Teststoff	COD _{Cr}	BOD ₂₈	DOC ₀	DOC ₂₈	DOC-red.
BFC 01/02	11000 mg/l	10100 mg/l	3020 mg/l	175 mg/l	95 %

BOD-kurve:



Nedbrytningsgrad:

Reduksjon, DOC: 95 %

$$\frac{BOD \cdot 100}{COD} = 92 \%$$

Oslo, den 28. februar 1995

Testet av: Hårry Efraimsson
Hårry Efraimsson

Kvalitetsansvarlig: Torsten Källqvist
Torsten Källqvist



ANALYSER OG RESULTATER:

Test periode: 16. des. 1994 til 13. jan. 1995.

Test produkt: BFC 01/02 Målestasjon

Lab. kode: B164/1

Kjemisk oksygenforbruk (COD_{Cr} 1:20 fortynning) = 550 mg/l

DOC verdier, mg/l:

Testkonsentrasjon:

2 %

1 %

Medium	Flaske	Startverdi	28 døgnet	Startverdi	28 døgnet
Inokulum	C1	0,8	1,6	0,7	1,6
"	C2	1,1	1,8	0,9	1,8
"	Cmv.	0,95	1,70	0,80	1,70
Teststoff.	A1	60,8	4,9	31,1	3,8
"	A2	60,5	4,4	31	3,1
"	Amv.	60,65	4,65	31,05	3,45
Korrigert (A-C)		59,70	2,95	30,25	1,75
DOC-reduksjon etter 28 døgnet nedbrytning (%)			95	94	

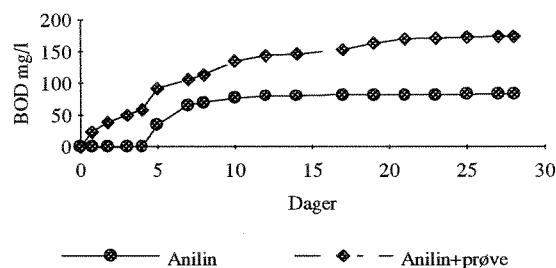
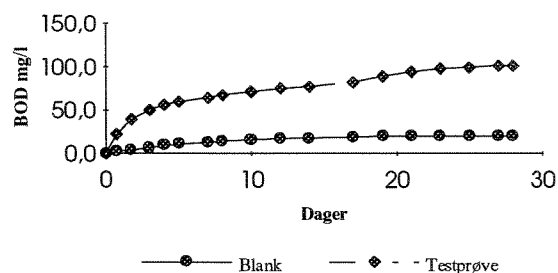
BOD-verdier i testløsningen for parallellprøvene:

Antall døgnet	5	7	14	21	28
BOD mg/l 1	59,1	67,1	76,3	89,9	100,2
BOD mg/l 2	60,1	68,2	77,9	97,8	102,7

Nedbrytninggrad for referanse (anilin) etter 14 døgnet (BOD₁₄ · 100/ ThOD): = 100 %

Testprøve:

Toksisitetskontroll:



Analytiske 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. Kjemisk oksygenforbruk (COD_{Cr}) er analysert etter NS 4748. NO₃-N er analysert etter NS 4745 (Autoanalyser Method).

REFERENSE:

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

Postboks 173 Kjelsås
0411 Oslo
Tel: 22 18 51 00
Fax: 22 18 52 00

Nedbrytbarhet OECD 301F

Test produkt: BFC 04/05/06/07

Lab. kode: B164/2

Testbetingelser:

Apparatur: Manometrisk respirometer, WTW 2001
**Nærings-
løsning:** ISO/DIS 9408 Standard saltløsninger. Ammonia: 1.3 mg N/L i preparert test-
løsning.
Inokulum: Mikroorganismer fra laboratorieprodusert biologisk aktivt slam (Husmann unit)
dyrket i OECD syntetisk kloakk, supplert med 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: 30 mg/l i testløsningen.
Inkubasjon: Temperatur: 20 ± 1 °C. Varighet: 28 dager.
pH: Start 7,5 Slutt: 7,8
Referense: Anilin, 20 mg C/l.
**Giftighets-
kontroll:** Anilin, 20 mg C/l + 1,33 % avløpsvann i testmedium
Test periode: 11. jan. 1995 til 7. feb. 1995.

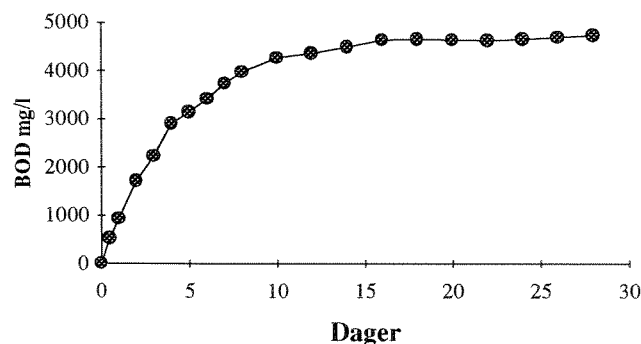
Preparering av prøve:

Avløpsvannet ble testet i to parallelle testflasker for bestemmelse av biokjemisk oksygenforbruk (BOD) og for løst karbon (DOC). Testkonsentrasjon: 1,33 % avløpsvann i testløsning.

Resultater:

Teststoff	COD _{Cr}	BOD ₂₈	DOC ₀	DOC ₂₈	DOC-red.
BFC 04/05/06/07	7600	4720 mg/l	2290 mg/l	760 mg/l	67 %

BOD-kurve:



Nedbrytningsgrad:


Reduksjon, DOC: 67 %

$$\frac{BOD \cdot 100}{COD} = 62 \%$$

Oslo, den 28. februar 1995

Testet av: 
Harry Efraimssen

Kvalitetsansvarlig:


Torsten Källqvist



ANALYSER OG RESULTATER:

Test periode: 11. jan. 1995 til 7. feb. 1995.

Test produkt: BFC 04/05/06/07

Lab. kode: B164/2

Kjemisk oksygenforbruk (COD_{Cr} 1:20 fortykning) = 380 mg/l

DOC verdier, mg/l: Testkonsentrasjon: 1,33 %

Medium	Flaske	Startverdi	28 døgn
Inokulum	C1	1,3	1,1
"	C2	1,1	1,3
"	Cmv.	1,20	1,20
Teststoff.	A1	31,5	11,6
"	A2	31,9	11
"	Amv.	31,70	11,30
Korrigert (A-C)		30,50	10,10
DOC-reduksjon etter 28 døgn nedbrytning (%)			67

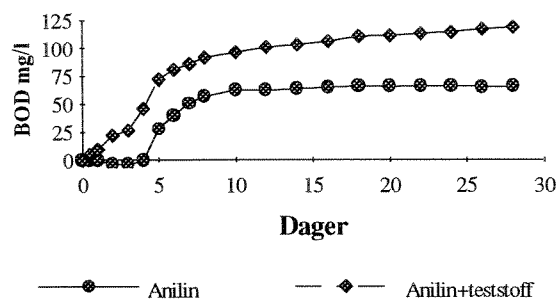
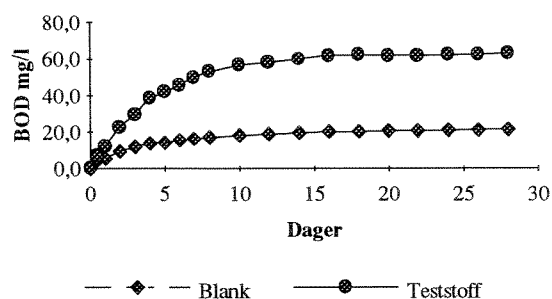
BOD-verdier i testløsningen for parallellprøvene:

Antall døgn		5	7	14	21	28
BOD mg/l 1		44,6	52,4	63,5	66	70,2
BOD mg/l 2		42,7	51,5	62,9	64,8	64,6
BOD mg/l 3		38,6	45,9	53,3	54,2	54,2

Nedbrytninggrad for referanse (anilin) etter 14 døgn (BOD₁₄ · 100/ ThOD): = 80 %

Testprøve:

Toksisitetskontroll:



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. Kjemisk oksygenforbruk (COD_{Cr}) er analysert etter NS 4748. NO₃-N er analysert etter NS 4745 (Autoanalyser Method).

REFERENSE:

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

VEDLEGG 5

Bioakkumuleringspotensiale

TEST REPORT

Bioaccumulation OECD 117

Test substance: Water

Lab. code: B164/1

Method:

The determination of potentially bioaccumulative compounds in water was carried out with reference to the OECD method 117 "OECD guideline for testing of chemicals, Partition Coefficient (n-octanol/water), High Performance Liquid Chromatography (HPLC) Method."

Analytical conditions:

Instrument: Waters HPLC with a Waters 490 Programmable Multiwavelength Detector.
 Column: BrownleeLabs, RP-18, Spheri 5, 5µm, 4.6x220 mm.
 Guard column: RP-18.
 Flow: 1 ml/min
 Temperature: 25 °C
 Mobile phase: MeOH/H₂O, 70:30 (v/v) pH 2.5 with H₃PO₄
 Wavelength: Max. plot: 220, 254 and 278 nm, 0.05 AUFS
 Injection volume: Reference compounds: 10 µl, sample: variable
 Concentration: Reference substances, approx. 0.5 mg/ml in MeOH/H₂O, 70:30 (v/v)

Reference substances:

Substance	Retention time, R _t , (min)	log P _{ow} (from table)
Thiourea	2.45t ₀	-
Benzylalcohol	3.33	1.1
Acetophenone	4.23	1.7
Anisole	6.03	2.1
Brombenzene	10.13	3.0
Ethylbenzene	13.55	3.2
1,2,4-trichlorobenzene	24.23	4.2
Fluoranthene	45.82	4.7
Triphenylamine	72.58	5.7

The dead time in the system was determined from the retention time of thiourea.
 Regression line: $\log P_{ow} = 2.35 \log k + 1.92$

Analysis:

The water sample was analysed directly on a HPLC. It was possible to detect some compounds in the sample.

Work up:

An aliquot of the water sample, 500 ml, was extracted with cyclohexane/diethyleter, 70:30 (v/v), 2 x 50 ml. The water phase was acidified, pH < 2, with concentrated H₂SO₄, and the extraction procedure was repeated. The water phase was made alkaline, pH > 12, with NaOH pellets, and the extraction was repeated. The extracts were combined and dried over Na₂SO₄. The extract was evaporated to about 0.2 ml. MeOH, 2 ml, was added, and evaporated to 1 ml. The extract was analysed by a HPLC.

Result:

The water sample injected directly on the HPLC. The chromatogram showed a band of unresolved peaks.

Retention time (min)	Calculated log P _{ow}
3.80-12.13	1.3-3.3

The sample extract injected on the HPLC. The chromatogram showed a band of unresolved peaks.

The extract was also diluted 1:150, and injected on the HPLC.

Retention time (min)	Calculated log P _{ow}
2.85-25.83	0.1-4.2

Conclusion:

Log P_{ow} = 3 corresponds to a retention time of 9.51 min, calculated from the regression line. Components with a retention time above this are assumed to be potentially bioaccumulative. Some of the detected compounds in the water sample have retention times above this value, and then log P_{ow}-values > 3, but the majority of the detected compounds have retention times below this value.

The water contains bioaccumulative compounds.

NIVA 160195

Torgunn Sætre
Torgunn Sætre
Analyst

Einar M. Brevik
Einar M. Brevik
Group leader

**References:**

OECD Guideline for Testing of Chemicals. Method 117, adopted 300389: "Partition Coefficient (n-octanol/water), High Performance Liquid Chromatography (HPLC) Method.

Hynning, P-Å; Bestämning av potentiellt bioackumulerbara substanser i industriella avlopp: separation, identifiering och kvantifiering. Institutet för vatten och luftvårdsforskning, Stockholm december 1993.

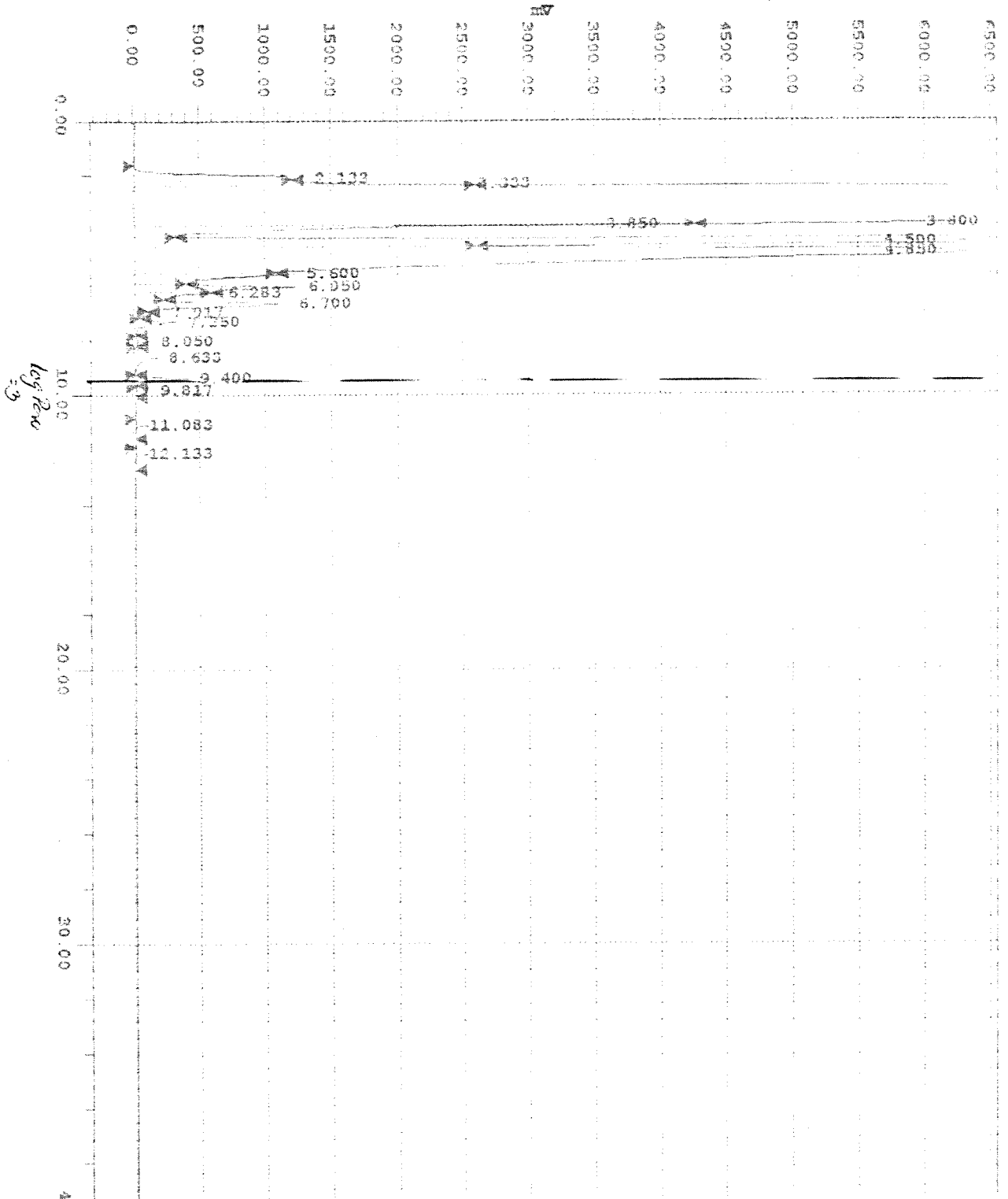
Number of enclosures: 4

For Sample: b164/1

Vial: 1 Inj: 1 Chan: SATIN

Date Processed 04/01/05 07:26

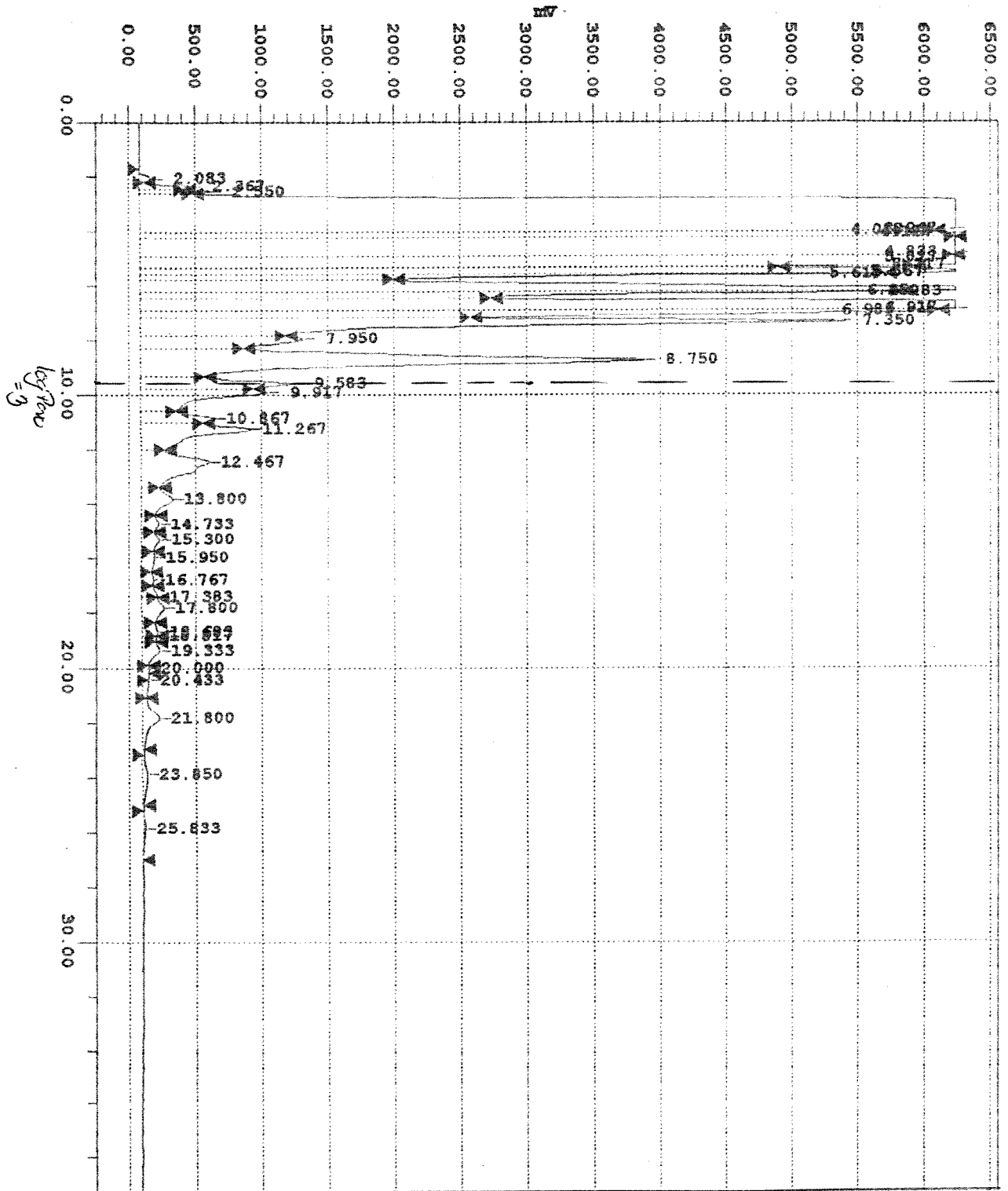
Channel Descr: UV detektor manuell



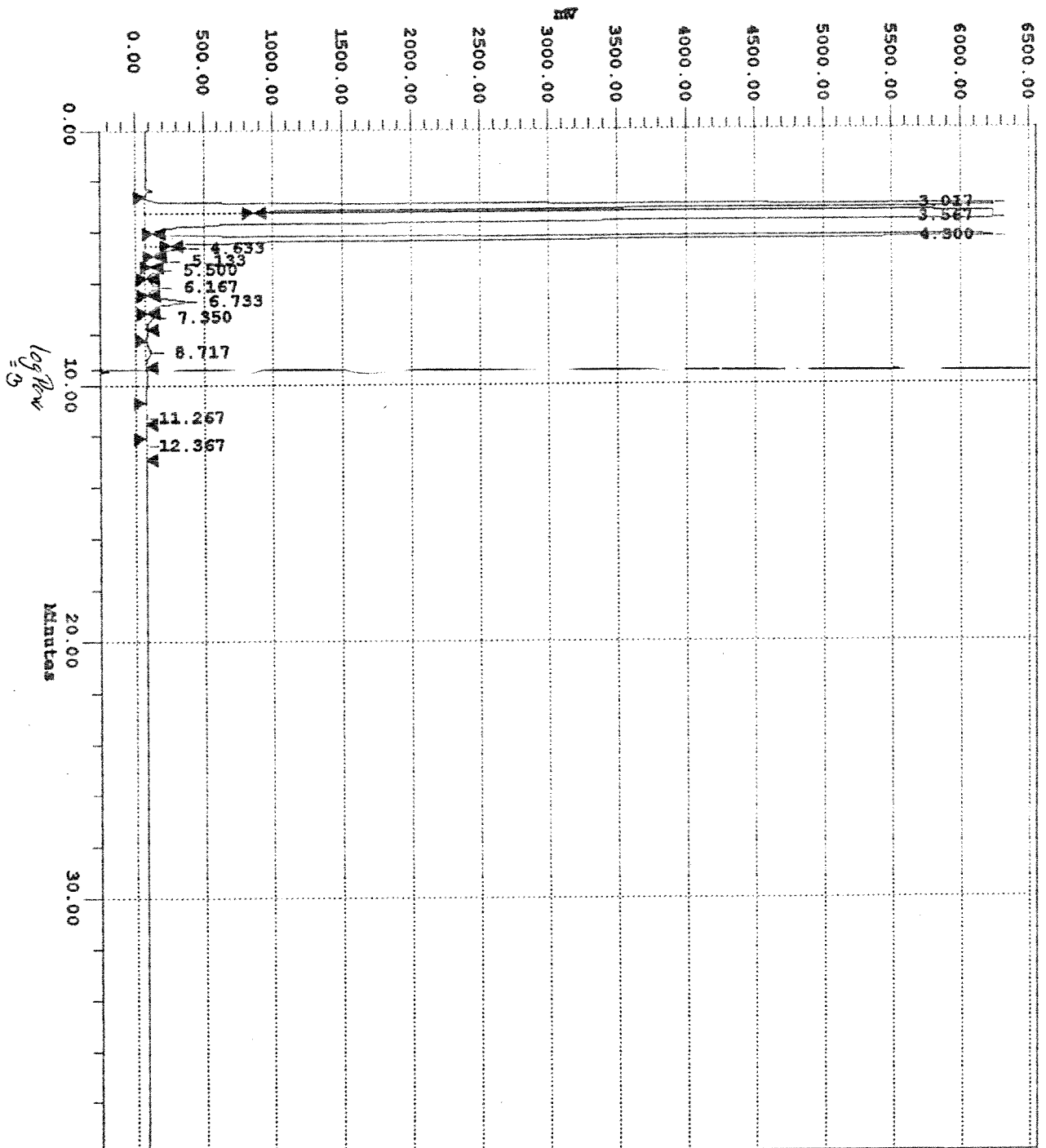
Water sample B164/1, liquid rejected

log 2x
-3

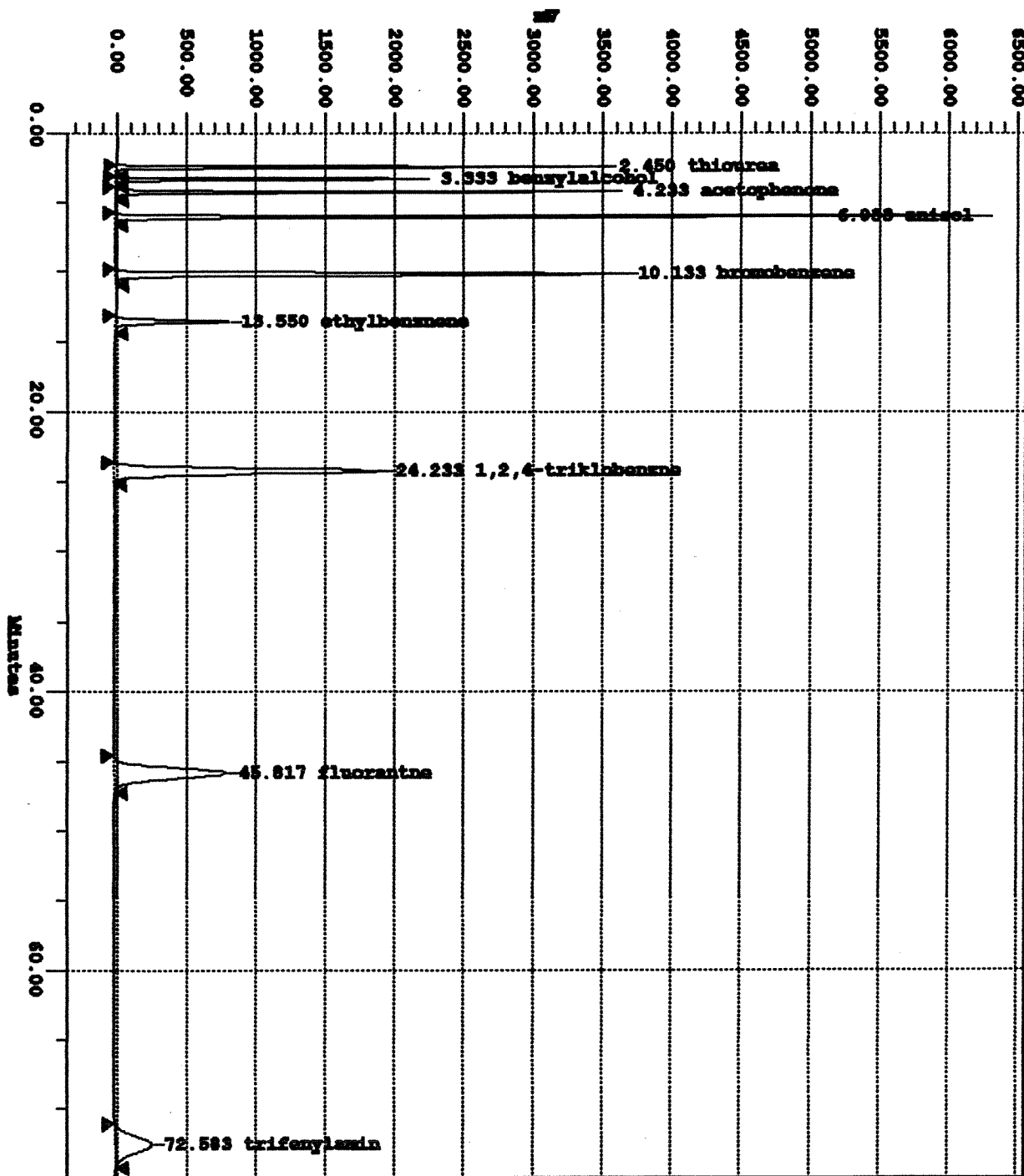
For Sample: b164/1 ekstr Vial: 3 Inj: 1 Chan: SATIN Date Processed 07/01/95 09:47
Channel Descr: UV detektor manuell



Extract of water sample B164/1. Spd injected



Revised extract 1:100 of sample B164/1, 5th injected.



Reference compounds

TEST REPORT

Bioaccumulation OECD 117

Test substance: Water

Lab. code: B164/2

Method:

The determination of potentially bioaccumulative compounds in water is carried out with reference to the OECD method 117 "OECD guideline for testing of chemicals, Partition Coefficient (n-octanol/water), High Performance Liquid Chromatography (HPLC) Method."

Analytical conditions:

Instrument: Waters HPLC with a Waters 490 Programmable Multiwavelength Detector.
 Column: BrownleeLabs, RP-18, Spheri 5, 5µm, 4.6x220 mm.
 Guard column: RP-18.
 Flow: 1 ml/min
 Temperature: 25 °C
 Mobile phase: MeOH/H₂O, 70:30 (v/v) pH 2.5 with H₃PO₄
 Wavelength: Max. plot: 220, 254 and 278 nm, 0.05 AUFS
 Injection volume: Reference compounds: 10 µl, sample: 5 µl
 Concentration: Reference substances, approx. 0.5 mg/ml in MeOH/H₂O 70:30 (v/v)

Reference compounds:

Compound	Retention time, R _t , (min)	log P _{ow} (from table)
Thiourea	2.40t ₀	-
Benzylalcohol	3.28	1.1
Acetophenone	4.18	1.7
Anisole	5.98	2.1
Trichloroethene	8.33	2.4
Bromobenzene	10.12	3.0
Ethylbenzene	13.53	3.2

The system dead time was measured by the retention time of thiourea.

Regression line: $\log P_{OW} = 1.88 \log k + 1.88$

Work up:

An aliquot of the water sample, 500 ml, was extracted with cyclohexane/diethyleter, 70:30 (v/v), 2 x 50 ml. The water phase was acidified, pH < 2, with concentrated H₂SO₄, and the extraction procedure was repeated. The water phase was made alkaline, pH > 12, with NaOH pellets, and the extraction was repeated. The extracts were combined and dried over Na₂SO₄. The extract was evaporated to about 0.2 ml. MeOH, 2 ml, was added, and the final volume was adjusted to 1 ml. The extract was analysed on a HPLC.

Result:

The sample extract injected on the HPLC.

Peak	Retention time (min)	Calculated log P _{ow}
1	3.07	0.8
2	3.50	1.2
3	4.15	1.6
4	4.28	1.7
5	4.65	1.8
6	6.97	2.4

Conclusion:

Log P_{ow} = 3 corresponds to a retention time of 11.86 min, calculated from the regression line. Components with a retention time above this are assumed to be potentially bioaccumulative. All the detected compounds in the water sample have retention times below this value, and then log P_{ow}-values < 3.

The water contains no detectable bioaccumulative components.

NIVA 160195

Torgunn Sætre
Torgunn Sætre
Analyst

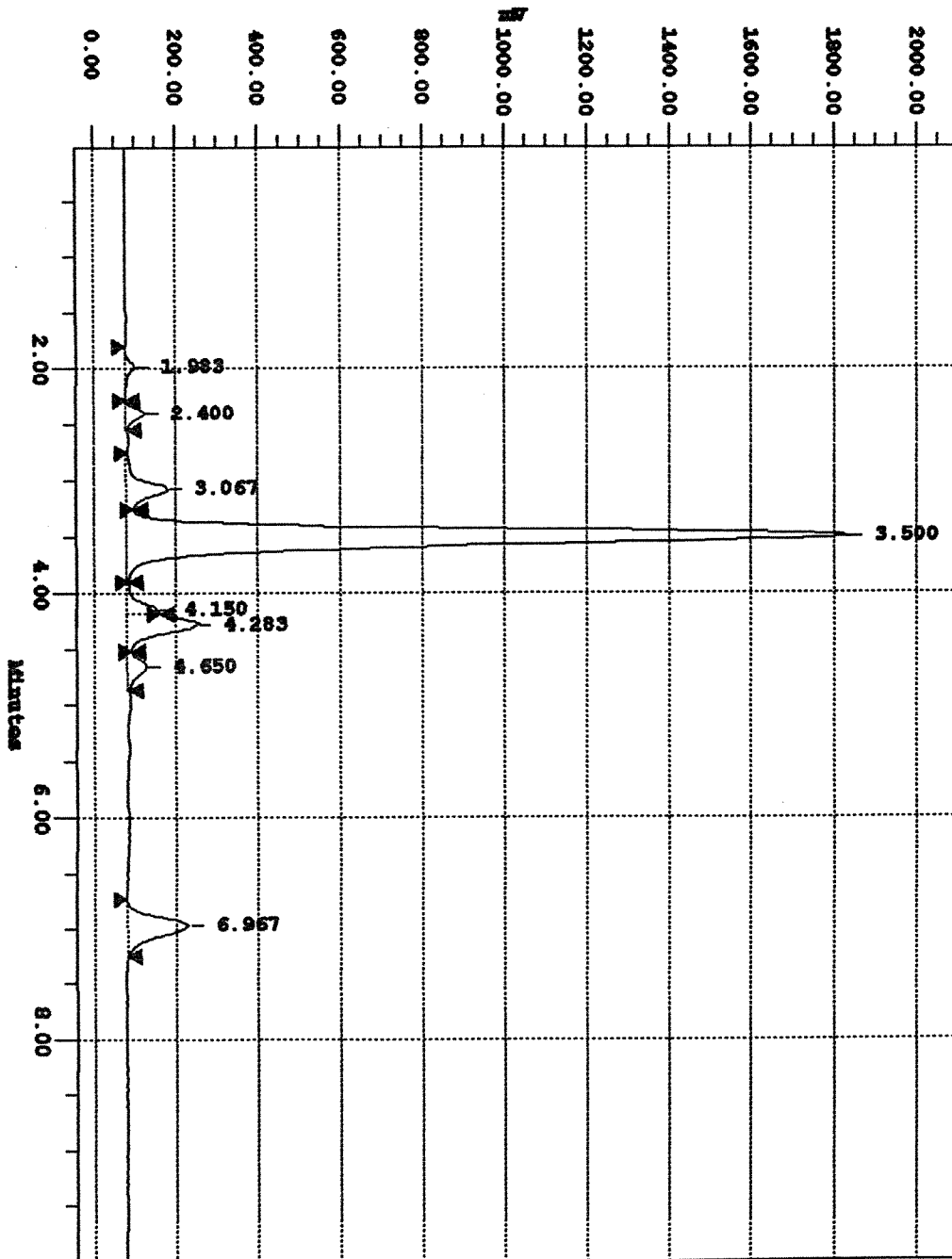
Einar M. Brevik
Einar M. Brevik
Group leader

References:

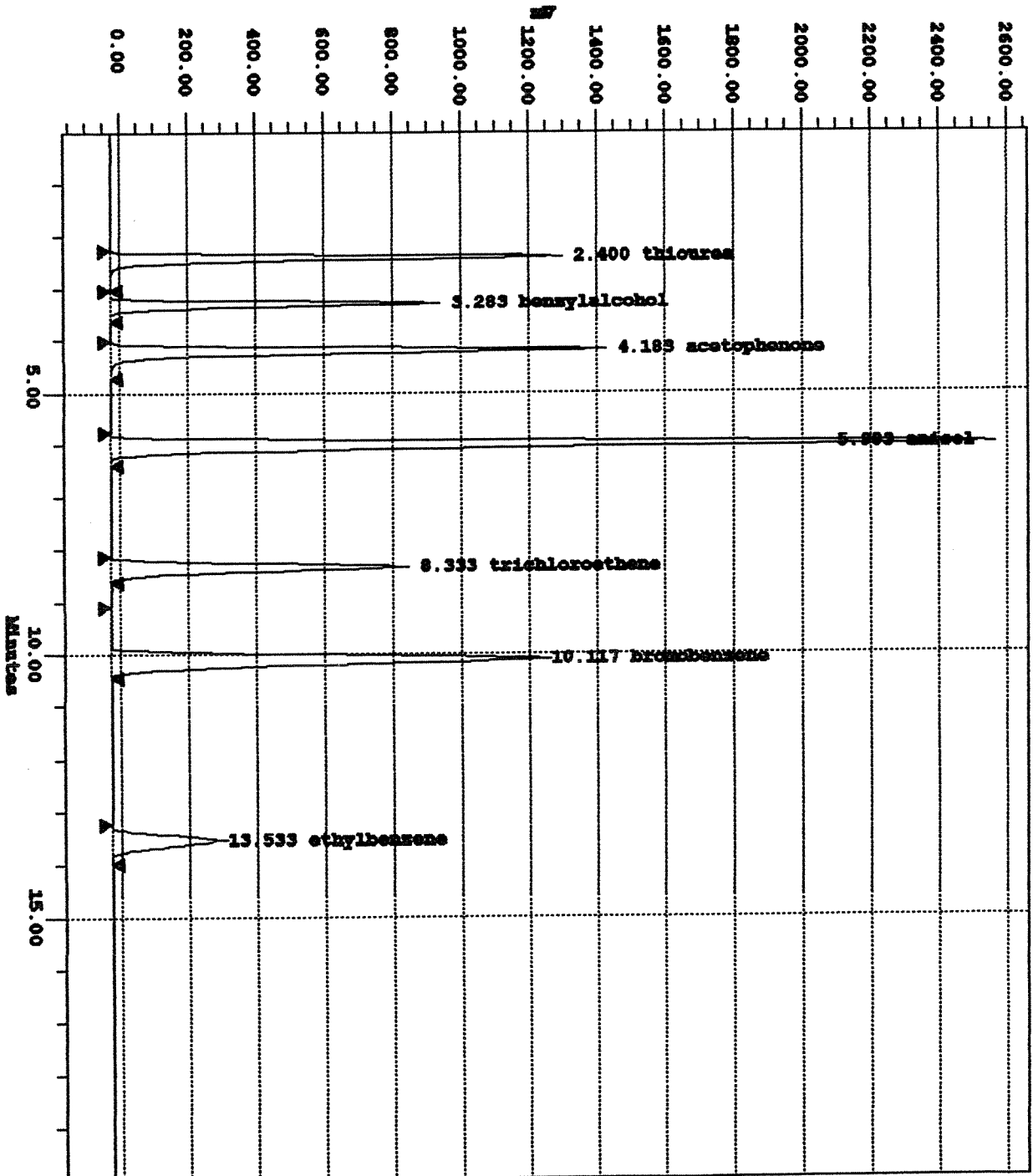
OECD Guideline for Testing of Chemicals. Method 117, adopted 300389: "Partition Coefficient (n-octanol/water), High Performance Liquid Chromatography (HPLC) Method.

Hynning, P-Å; Bestämning av potentiellt bioackumulerbara substanser i industriella avlopp: separation, identifiering och kvantifiering. Institutet för vatten och luftvårdsforskning, Stockholm december 1993.

Number of enclosures: 2



Abstract of water sample Buvila, Spal ingetted



NIVA



Norsk institutt for vannforskning

Postboks 173 Kjelsås, 0411 Oslo

Telefon: 22 18 51 00 Fax: 22 18 52 00

ISBN 82-577-2721-0