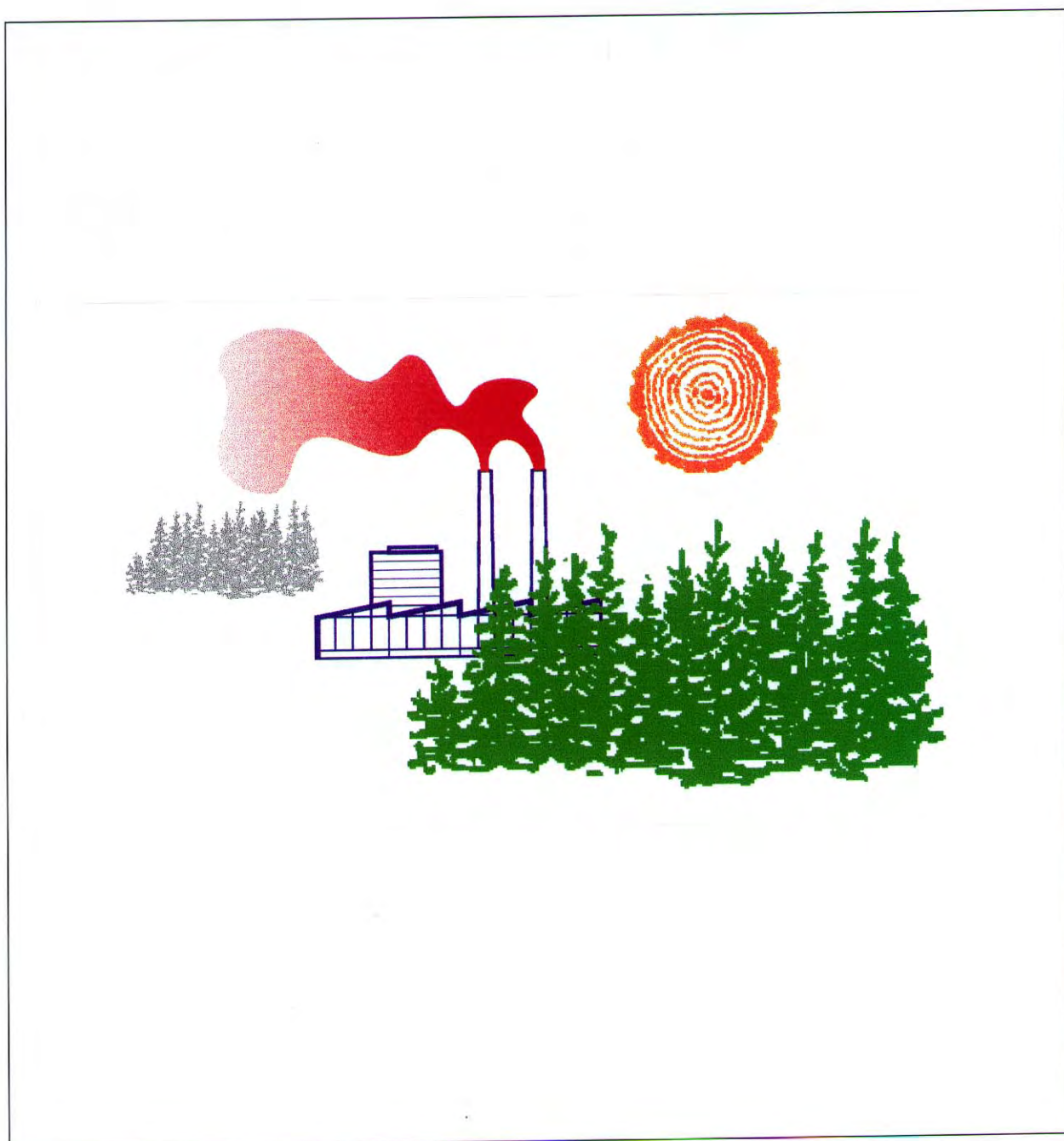


RAPPORT LNR 3482-96

Økotoxikologisk
karakterisering
av avløpsvann fra
Norske Skog
Tofte Industrier, Tofte



NIVA - RAPPORT

Norsk institutt for
vannforskning



Prosjektnr.: O-95208	Undernr.:
Løpenr.: 3482-96	Begr. distrib.: nei

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 karakterisering av avløpsvann fra Norske Skog Tofte Industrier, Tofte.	Dato: 1996	Trykket: NIVA
	Faggruppe: Miljøtoksikologi	
Forfatter(e): August Tobiesen	Geografisk område: Østfold	
	Antall sider: 12	Opplag: 25

Oppdragsgiver: Norske Skog Tofte Industrier	Oppdragsg. ref.: Marit Borge Skar
--	--------------------------------------

Ekstrakt:

Avløpsvannet fra kortfiber og langfiber produksjon fra Norske Skog Tofte Industrier er blitt karakterisert ved kjemiske analyser og økotoksikologiske tester av toksisitet, nedbrytbarhet og bioakkumuleringspotensiale. Avløpsvannet inneholdt ca. 174-208 mg organisk karbon/L avhengig av produksjonstype. Nedbrytbarheten av det løste organiske materialet var ca. 50-70 % i løpet av en 28 døgns test. Toksisitetstestene med bakterier, alger, krepsdyr og fisk viser at avløpsvannets akutte gifteffekter er lave. Mengden av stoffer med Log Pow>3 blir vesentlig redusert under bionedbrytbarhetsstudiet.

4 emneord, norske

1. Avløpsvann
2. Treforedling
3. Toksisitet
4. Nedbrytbarhet

4 emneord, engelske

1. Waste water
2. Pulp and paper industry
3. Toxicity
4. Biodegradation

Prosjektleder

For administrasjonen

ISBN 82-577-3021-1

O-95253

**ØKOTOKSIKOLOGISK KARAKTERISERING AV
AVLØPSVANN FRA NORSKE SKOG TOFTE INDUSTRIER**

Saksbehandler:	August Tobiesen	NIVA
Medarbeidere:	Harry Efraimsen	NIVA
	Randi Romstad	NIVA
	Torsten Källqvist	NIVA

INNHold

1. PROGRAM FOR KARAKTERISERINGEN	3
1.1 PRØVETAKING	3
1.2 KJEMISK KARAKTERISERING	3
1.3 Toksitetstester	3
1.4 Nedbrytbarhetstester	4
1.5 Bioakkumulerbarhet	5
2. RESULTATER	6
2.1 Resultater av tester på rensset vann fra kortfiber produksjon	6
2.1.1 Kjemisk karakterisering	6
2.1.2 Nedbrytbarhet	6
2.1.3 Toksitet	7
2.1.4 Bioakkumulering	8
2.2 Resultater av tester på rensset vann fra langfiber produksjon	8
2.2.1 Kjemisk karakterisering	8
2.2.2 Nedbrytbarhet	8
2.2.3 Toksitet	10
2.2.4 Bioakkumulering	10
3. DISKUSJON	11

BAKGRUNN

Norske Skog Tofte Industrier henvendte seg i 1995 til NIVA for å få utført en økotoksikologisk karakterisering av avløpsvann fra Tofte industrier ved Tofte. Et forslag til program for undersøkelsen ble utarbeidet og akseptert 14.11.95. Karakteriseringen skulle omfatte prøver fra produksjon av både langfibret masse av gran og furu samt kortfibret masse av eucalyptus.

Tofte Industrier sto ansvarlig for prøvetaking og forsendelse til NIVA.

1. PROGRAM FOR KARAKTERISERINGEN

1.1 PRØVETAKING

Prøver av avløpsvannet ble tatt som øyeblikks prøver av Norske Skog 14 november 1995 (kortfiber) og 13 desember 1995 (langfiber) og sendt til NIVA. Prøvene ble tatt fra utløpet fra sedimentasjonsanlegget. Avløpsvannet har en oppholdstid på 5 timer før det slippes ut gjennom en 300m ledning som munner ut på 30-50 m dyp i sjøen. Karakteriseringen ble avsluttet i mars 1996.

1.2 KJEMISK KARAKTERISERING

Den kjemiske karakteriseringen av avløpsvannet (øyeblikksprøve) omfattet:

- pH-verdi
- konduktivitet
- kjemisk oksygenforbruk
- totalt organisk karbon (TOC)
- suspendert materiale
- total nitrogen
- total fosfor
- ekstraktivstoffer (harpikssyrer, fettsyrer, ligniner og steroler)

1.3 Toksisitetstester

Toksisitetstest med bakterier ble utført med Microtox-testen. I denne måles hemming av lysutskillelse fra den marine bakterien *Photobacterium fisheri*. Avløpsvannet fortynnes i sjøvann og bakteriene tilsettes. Etter 5 og 15 min. eksponering måles lysproduksjonen med et spesielt fotometer. Resultatet av Microtox-testen uttrykkes som EC₅₀-verdi, dvs. den konsentrasjon som har 50% hemmende effekt på bakterienes lysutskillelse

Toksisitetstesten med alger ble utført i henhold til ISO 10253 "Marine Alga growth inhibition test", med *Skeletonema costatum* som testorganisme. Avløpsvannet ble filtrert og tilsatt salter for å få samme saltholdighet i avløpsvannet som i sjøvann. En konsentrasjonsserie av avløpsvannet i sjøvann (60 m dyp i ytre Oslofjord) med tilsetning av næringssalter ble podet

med aktivt voksende testalger fra en stamkultur, og inkubert med konstant belysning (ca. $80 \mu\text{E m}^{-2} \text{s}^{-1}$) og ved temperaturen 20 C° .

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 blir tegnet opp i et konsentrasjon/responsdiagram. Fra dette kan EC_{50} -verdien bestemmes dersom man oppnår mer enn 50% veksthemming.

Giftighetstesten med krepsdyr (*Acartia tonsa*) ble gjort i henhold til et ISO forslag: "Determination of acute lethal toxicity to marine copepods (Copepoda Crustacea)" Forsøksdyr som var fra 17 til 25 døgn gamle ble eksponert i en fortyningsserie av avløpsvannet. Salter ble tilsatt avløpsvannet for å oppnå samme saltholdighet i alle prøver. Etter 24 og 48 timers eksponering ble dyrene observert og antallet dyr som var døde ble registrert. Resultatene av testen uttrykkes som LC_{50} -verdi, dvs. den konsentrasjon som dreper 50% av krepsdyrene i løpet av testen.

Giftighetstesten med fisk (piggvar) ble utført etter en metode foreslått av PARCOM: "Acute test with juvenile turbot *Scophthalmus maximus*, A draft procedure". Denne bygger på OECD Guideline 203 "Fish acute toxicity test". Fisken var levert av Tinfos Aqua A/S og var ca. 13 uker gamle. Dødeligheten av fisken ble undersøkt over 4 døgn i ulike konsentrasjoner av avløpsvannet, fortynnet i sjøvann fra 60 m dyp i ytre Oslofjord (Solbergstrand). Forsøket ble utført i akvarier med 25 L volum og med 7 fisker for hver konsentrasjon. Avløpsvannets saltholdighet ble ikke justert. Fiskene ble overført til ny testløsning hvert døgn (semistatisk metode). Testen ble utført ved ca. 14 C° . Resultatene av fisketesten uttrykkes som LC_{50} -verdi.

1.4 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 brytes ned i miljøet.

Nedbrytbarhetstesten ble utført med en respirometrisk metode (OECD 301 F), hvor oksygenforbruket ved nedbrytning blir registrert over en 28 døgns periode ved temperaturen 20 C° . I tillegg ble konsentrasjonen av løst organisk karbon (DOC) målt ved begynnelsen og slutten av testen.

Avløpsvannet ble fortynnet til 25 % konsentrasjon for å få en konsentrasjon av organisk karbon som er egnet for metoden. Uorganiske næringssalter ble tilsatt og prøven inokulert med mikroorganismer fra et laboratorie-aktivt slamlegg. Prøvene ble inkubert i lukkede, mørke flasker som var tilkoblet manometre. Karbondioksyd, produsert ved nedbrytningen ble absorbert i lut i en beholder inne i flasken. Oksygenforbruket ble lest av fortløpende på manometrene.

Ved nedbrytbarhetstester av enkeltkemikalier er det vanlig å bruke DOC-reduksjon større enn 70% etter 28 døgn som kriterium for "lett nedbrytbar". 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 ble

gjort ved å gjenta deler av karakteriseringen (kjemiske analyser, Microtox og bioakkumulerbarhet) etter nedbrytbarhetstesten.

Parallelt med respirometertesten ble det satt opp en nedbrytbarhetstest med større volum for karakterisering av avløpsvann etter nedbrytning. Forbehandling, inokulering og inkubering ble foretatt på samme måte som i respirometertesten, men konsentrasjonen av avløpsvann var 50 %. Nedbrytningen av organisk analyse ble fulgt ved DOC-analyser.

1.5 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 kjemikaliet i fiskekjøttet undersøkes ved analyser. P.g.a. at bioakkumulerbarheten av organiske stoffer mest beror på stoffets fettløselighet (lipofilitet) har man imidlertid utviklet screening-metoder for undersøkelse av potensiell bioakkumulerbarhet, som er basert på måling 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 $P_{OW} > 1000$.

2. RESULTATER

Testrapporter for tester av nedbrytbarhet, toksisitet og bioakkumuleringspotensiale er lagt i vedlegg A. En sammenstilling av resultatene er gjort nedenfor.

2.1 Resultater av tester på rensert vann fra kortfiber produksjon (NIVA prøve B212)

2.1.1 Kjemisk karakterisering

Resultatet av den kjemiske karakteriseringen av avløpsvannet før og etter 28 døgns nedbrytbarhetstest er vist i tabell 1. Innholdet av organisk stoff, salter og næringssalter er relativt lavt. Et lavt forhold mellom BOD og COD tyder på at mesteparten av de organiske komponentene ikke er lett nedbrytbare.

Konsentrasjonene av harpikssyrer og fettsyrer (tabell 2) er normale for et avløpsvann fra termomekanisk masseproduksjon. Før biologisk rensing er konsentrasjonene av harpikssyrer normalt 10-50 mg/L. Sammenligning av analysene før og etter nedbrytbarhetstest viser at nær 74 % av harpikssyrene, ca. 48 % av fettsyrene og ca. 84 % av sterolene ble fjernet ved nedbrytning (28 døgn).

Tabell 1. Kjemiske karakterisering av avløpsvann fra kortfiber produksjon. Alle tall er justert for eventuell fortyning ved prøvetakingstidspunktet.

analysevariabel	enhet	før nedbrytn.	etter nedbrytn.
pH		7.29	-
Konduktivitet	mS/m	191	-
Suspendert tørrstoff	mg/L	23.3	-
BOD ₇	mg O/L	165	-
Kjemisk oksygenforbruk (COD)	mg O/L	470	-
Totalt organisk karbon (TOC)	mg/L	208	-
Løst organisk karbon (DOC)	mg/L	158.1	46.8
Totalt nitrogen (Tot. N)	mg/L	3.6	
Totalt fosfor (Tot. P)	mg/L	4.14	

2.1.2 Nedbrytbarhet

Nedbrytbarhetstesten (se vedlegg) viste et raskt oksygenforbruk de første dagene, men deretter øket oksygenforbruket meget langsomt gjennom hele testperioden (28 døgn). Det totale oksygenforbruket (korrigert for fortyning) var 330 mg/L. Dette er 70 % av COD analysert i samme delprøve. Reduksjonen i DOC var fra 157 til 47 mg/L, dvs. 70%.

I nedbrytbarhetsstudiet som ble utført i 50 % konsentrasjon for karakterisering av avløpsvann før og etter nedbrytning, var DOC-konsentrasjonen ved start 79.05 mg/L før nedbrytning og 23.40 mg/L etter nedbrytning, reduksjonen var således 70 %. Dette verifiserer resultatet av nedbrytbarhetstesten. Resultatene viser at mesteparten av de løste organiske forbindelsene er lett nedbrytbare. Dette tyder på at det ikke er foregått noen betydelig forutgående nedbrytning før utslipp til resipienten.

Tabell 2. Organiske analyser av avløpsvann fra kortfiber produksjon, før og etter en nedbrytningsperiode på 28 dager. Alle tall er justert for eventuell fortynning ved prøvetakingstidspunktet.

analysevariabel	enhet	før nedbrytn.	etter nedbrytn.
Pimaric acid	mg/L	0.041	0.008
Sandaracopimaric acid	mg/L	0.004	0.006
Isopimaric acid	mg/L	0.011	0.004
Palustric acid	mg/L	nd	nd
Levopimaric acid	mg/L	nd	nd
Dehydroabietic acid	mg/L	0.068	0.018
Abietic acid	mg/L	0.015	nd
Neoabietic acid	mg/L	nd	nd
SUM harpikssyrer	mg/L	0.139	0.036
Linoleic acid	mg/L	0.014	nd
Oleic acid	mg/L	0.028	0.022
SUM fettsyrer	mg/L	0.042	0.022
Campesterol	mg/L	0.012	nd
β -sitosterol	mg/L	0.154	0.034
β -sitostanol	mg/L	0.172	0.020
SUM Steroler	mg/L	0.338	0.054

2.1.3 Toksisitet

Resultatene av toksisitetstestene er sammenfattet i tabell 3.

Resultatene av toksisitetstestene viser at avløpsvannet har lav akutt gifteffekt på de testede organismene, med veksthemming hos algen *Skeletonema costatum* som den mest sensitive organismen, her ble EC50 funnet til 12.1 %. Etter 48 timer i testen med *Acartia tonsa* overlevde alle dyr ved 12 % konsentrasjon, mens alle døde ved 56 %. Ingen dødelighet av piggvar ble registrert ved den høyeste testkonsentrasjonen (56 %).

Avløpsvannet fra kortfibret produksjon fra Tofte Industrier har en moderate toksisitet ovenfor alger under testbetingelsene i denne testen. Den relativt bratte kurven i dose/respons figuren antyder at toksisiteten hovedsaklig skyldes et stoff alene.

Tabell 3. Resultater av toksisitetstester for avløpsvann fra kortfiber produksjon.

Organisme	Responssparameter		Før nedbr.	Etter nedbr.
Microtox	lysutskillelse	EC ₅₀	>100 %	>50 % *
Skeletonema costatum	veksthastighet	EC ₅₀	12.1 %	-
Acartia tonsa	dødelighet	LC ₅₀	32 %	-
Piggvar	dødelighet	LC ₅₀	> 50 %	-

*Avløpsvannet ble fortynnet til 50 % i forbindelse med nedbrytbarhetstudien.

2.1.4 Bioakkumulering

Mengden organiske forbindelser med potensiale for bioakkumulering var i følge den tynnsjikt-kromatografiske separasjonen av fettløselige komponenter ($\log P_{ow} > 3$) 2.9 mg/L i avløpsvannet før nedbrytning. Etter nedbrytning var konsentrasjonen redusert til 0.28 mg/L. Nedbrytningsgraden av de potensielt bioakkumulerbare komponentene var altså 90 %. Dette er høyere enn for organisk stoff totalt og tyder på at de potensielt bioakkumulerbare stoffene til største delen er lett nedbrytbare.

2.2 Resultater av tester på rensset vann fra langfiber produksjon (NIVA prøve B215)

2.2.1 Kjemisk karakterisering

Resultatet av den kjemiske karakteriseringen av avløpsvannet før og etter 28 døgns nedbrytbarhetstest er vist i tabell 4. Innholdet av organisk stoff, salter og næringsalter er relativt lavt. Et lavt forhold mellom BOD og COD tyder på at mesteparten av de organiske komponentene ikke er lett nedbrytbare.

Konsentrasjonene av harpikssyrer og fettsyrer fra et termomekanisk masseproduksjon er vist i tabell 5. Før biologisk rensing er konsentrasjonene av harpikssyrer normalt 10-50 mg/L. Sammenligning av analysene før og etter nedbrytbarhetstest viser at 86 % av harpikssyrene, ca. 35 % av fettsyrene og ca. 59 % av sterolene ble fjernet ved nedbrytning (28 døgn).

2.2.2 Nedbrytbarhet

Nedbrytbarhetstesten (se vedlegg) viste et et raskt oksygenforbruk de første dagene, men deretter øket oksygenforbruket meget langsomt gjennom hele testperioden (28 døgn). Det totale oksygenforbruket (korrigert for fortynning) var 236 mg/L. Dette er 26 % av COD analysert i samme delprøve. Reduksjonen i DOC var fra 153 til 73 mg/L, dvs. 52 %.

Tabell 4. Kjemiske analyser av avløpsvann fra langfiber produksjon. Alle tall er justert for eventuell fortynning ved prøvetakingstidspunktet.

analysevariabel	enhet	før nedbrytn.	etter nedbrytn.
pH		6.56	-
Konduktivitet	mS/m	155	-
Suspendert tørrstoff	mg/L	108	-
BOD ₇	mg O/L	109	-
Kjemisk oksygenforbruk (COD)	mg O/L	919	-
Totalt organisk karbon (TOC)	mg/L	174	-
Løst organisk karbon (DOC)	mg/L	155.7	77.1
Totalt nitrogen (Tot. N)	mg/L	3.1	
Totalt fosfor (Tot. P)	mg/L	1.42	

Tabell 5. Organiske analyser av avløpsvann fra langfiber produksjon. før og etter en nedbrytningsperiode på 28 dager. Alle tall er justert for eventuell fortynning ved prøvetakingstidspunktet

analysevariabel	enhet	før nedbrytn.	etter nedbrytn.
Pimaric acid	mg/L	0.059	0.008
Sandaracopimaric acid	mg/L	0.016	0.002
Isopimaric acid	mg/L	0.060	0.008
Palustric acid	mg/L	nd	nd
Levopimaric acid	mg/L	nd	nd
Dehydroabietic acid	mg/L	0.139	0.018
Abietic acid	mg/L	0.061	0.008
Neoabietic acid	mg/L	nd	nd
SUM harpikssyrer	mg/L	0.335	0.044
Linoleic acid	mg/L	0.017	0.012
Oleic acid	mg/L	0.035	0.022
SUM fettsyrer	mg/L	0.052	0.034
Campesterol	mg/L	0.028	0.012
β-sitosterol	mg/L	0.088	0.038
β-sitostanol	mg/L	0.020	0.003
SUM Steroler	mg/L	0.136	0.056

I nedbrytbarhetsstudiet som ble utført i 50 % konsentrasjon for karakterisering av avløpsvann før og etter nedbrytning, var DOC-konsentrasjonen ved start 77.85 og etter nedbrytning 38.55 mg/L,

reduksjonen var således 50 Dette verifiserer resultatet av nedbrytbarhetstesten hvor resultatet var 52 %. Resultatene viser at mesteparten av de løste organiske forbindelsene er noe nedbrytbare. Dette tyder på at det ikke er foregått noen omfattende forutgående nedbrytning før utslipp til resipienten.

2.2.3 Toksisitet

Resultatene av toksisitetstestene er sammenfattet i tabell 6.

Tabell 6. Resultater av toksisitetstester av avløpsvann fra langfibret produksjon

Organisme	Responsparemeter		Før nedbr.	Etter nedbr.
Microtox	lysutskillelse	EC ₅₀	50 %	>50 %
<i>Skeletonema costatum</i>	veksthastighet	EC ₅₀	12.6 %	-
<i>Acartia tonsa</i>	dødelighet	LC ₅₀	30 %	-
Piggvar	dødelighet	LC ₅₀	>56 %	-

*Avløpsvannet ble fortynnet til 50 % i forbindelse med nedbrytbarhetstudien.

Resultatene av toksisitetstestene viser at avløpsvannet har lav akutt gifteffekt på de testede organismene, med veksthemming hos algen *Skeletonema costatum* som den mest sensitive parameter, her ble EC₅₀ funnet til 12.6 %. Etter 48 timer i testen med *Acartia tonsa* var den ingen signifikant dødelighet ved 12 % konsentrasjon, ved 56 % døde alle dyrene. Ingen dødelighet av piggvar ble registrert ved den høyeste testkonsentrasjonen (50%).

Avløpsvannet fra langfibret produksjon fra Tofte Industrier har en moderate toksisitet ovenfor alger under testbetingelsene i denne testen. Den relativt bratte kurven i dose/respons figuren antyder at toksisiteten hovedsaklig skyldes et stoff alene.

2.2.4 Bioakkumulering

Mengden organiske forbindelser med potensiale for bioakkumulering var i følge den tynnsjikt-kromatografiske separasjonen av fettløselige komponenter ($\log P_{ow} > 3$) 2.96 mg/L i avløpsvannet før nedbrytning. Etter nedbrytning var konsentrasjonen redusert til 0.26 mg/L. Nedbrytningsgraden av de potensielt bioakkumulerbare komponentene var altså >90 %. Dette er høyere enn for organisk stoff totalt og tyder på at de potensielt bioakkumulerbare stoffene til største delen er lett nedbrytbare.

3. DISKUSJON

Karakteriseringen viser at avløpsvannet fra Norske Skog, Tofte industrier inneholder en del organiske restprodukter, som også gir vannet en brunlig farge. Disse stoffene er tildels ganske labile som resultatet av nedbrytbarhetstesten viser, med en DOC reduksjon på 70 % for kortfiber produksjon og 50 % for langfiber produksjon. Mengde stoff med $\text{Log Pow} > 3$ ble redusert med 80 % eller mer i løpet av 28 dager.

Oksygenforbruket er noe høyere ved kortfiber produksjon enn langfiber produksjon. Antar vi at sjøvann inneholder 8 mg O_2 per liter vil 1 liter avløp fra kortfiber produksjon forbruke all oksygen i 4 l sjøvann, tilsvarende for langfiber produksjon er 30 l.

Med hensyn til toksisitet ovenfor akvatiske organismer var det liten forskjell på de to utslippene. Av dette kan man slutte at den toksiske komponenten trolig er tilført i prosessen. Microtox testen er for lite sensitiv i dette tilfelle for å kunne avsløre om toksisiteten ble redusert i løpet av den biologiske nedbrytnings prosessen. Det er derfor ikke mulig å si om biologisk nedbrytning løpet av en 28 dagers periode har konsekvenser for toksisiteten til avløpet.

Avløpsvannets toksisitet var moderat for begge typer produksjon. På dette grunnlaget må faren for akutte gifteffekter i resipienten betegnes som liten. Miljøstyrelsen i Danmark har foreslått retningslinjer for beregning av "null-efekt konsentrasjon" ($\text{PNEC} = \text{predicted no effect concentration}$) på grunnlag av toksisitetstestdata. (Pedersen et al. 1994). Når man har data fra tester med alger, krepsdyr og fisk er usikkerhetsfaktoren for $\text{PNEC}_{\text{akutt}}$ satt til 10. $\text{PNEC}_{\text{akutt}}$ beregnes ved å dividere den laveste EC/LC_{50} -vedien med usikkerhetsfaktoren. Usikkerhetsfaktoren tar hensyn til forskjeller i følsomhet hos ulike organismer. For å beregne null-effekt konsentrasjonen for kroniske effekter ($\text{PNEC}_{\text{kronisk}}$) må man i tillegg ta hensyn til at kroniske effekter vanligvis opptrer ved lavere konsentrasjoner enn akutte effekter. Miljøstyrelsen har foreslått usikkerhetsfaktoren til 20. Disse usikkerhetsfaktorene er lavere enn man normalt bruker ved miljøfarlighetsvurderinger av kjemikalier (OECD 1992). Dette kan begrunnes med at variasjonen i følsomhet er lavere for komplekse blandinger enn for enkeltkjemikalier (Miljøstyrelsen 1994).

Som utgangspunkt for beregningen av null-effektkonsentrasjoner for avløpsvann fra Tofte Industrier brukes laveste EC/LC_{50} som er 12 % (Alge). Med de usikkerhetsfaktorer som er nevnt ovenfor kan følgende null-effektkonsentrasjoner beregnes:

$$\text{PNEC}_{\text{akutt}} = \frac{12}{10} = 1.2 \%$$

$$\text{PNEC}_{\text{kronisk}} = \frac{12}{20} = 0.6 \%$$

Fortynningsbehovet for å komme under $\text{PNEC}_{\text{kronisk}}$ er således 170 ggr. Utslipet ledes ned til 30-50 m dyp hvor en diffusor fordeler utslippet over de siste 30m av utslippsledningen. Ved å sammenholde dette fortynningsbehovet og strømningsforholdene på stedet kan man enkelt beregne influensområdet (Influensområdet er det vannvolumet som til enhver tid har en konsentrasjon av avløpsvann som overstiger $\text{PNEC}_{\text{kronisk}}$). For utslippet i 1988 beregnet Miljøplan en primærfortynning i innlagret skikt på 50-100 gangers fortynning. Innlagret skikt er beregnet til 8-

10m. Prmærfortynningsvolumet må ytterligere fortynnes 2 ganger for å komme under PNEC_{kronisk} verdien.

Avløpsvannets totale gifteffekt kan også uttrykkes som "Toxicity emission factor" eller TEF. TEF-verdien beregnes ved å multiplisere avløpsvannets toksisitet med utslippsmengden (Q). TEF verdien er en resipientuavhengig parameter som kan nyttes til sammenligning mellom ulike bedrifter/industrier. Dette krever at EC/LC₅₀-verdiene omregnes til en enhet (TU) som gir økende verdi med økende giftighet. TU beregnes som:

$$TU = \frac{100}{EC / LC_{50}} \quad \text{med EC/LC}_{50} \text{ angitt som } \% \text{ konsentrasjon}$$

TEF verdien beregnes som:

$$TEF = TU * Q \quad \text{med Q angitt f.eks. som m}^3/\text{time}$$

Laveste EC/LC₅₀-verdier var 12 %, derfor blir TU= 8.3. Utslipet fra fibermasseproduksjon er omlag 43000 m³/døgn eller 1792 m³/time, derfor blir TEF= 14870. Utslipet i dag er bare noe mindre enn beregnet i 1988 på 55-60 000 m³/døgn. Det er altså ikke noen signifikant reduksjon i utslippet, siden 1988. Men uten kjennskap til toksisiten av utslippet i 1988 kan det ikke sies noe om endringens betydning for miljøet.

REFERANSER

Pedersen, F., A. Damborg og P. Kristensen (1994): Industrispildevands miljøfarlighet. Miljøstyrelsen, Miljøprosjekt nr. 260, 74 pp.

OECD 1992: Report of the OECD workshop on the extrapolation of laboratory aquatic toxicity data to the real environment. OECD Environment Monographs no. 59, OECD, Paris.

VEDLEGG

Testrapporter

Norsk
Institutt
for
Vannforskning

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

Nedbrytbarhet
OECD 301F



Kunde: Norske Skog A/S Tofte Industrier

Test produkt: Avløpsvann, langfibret produksjon **Lab. kode:** B215/1
Prøve mottatt: 13. des. 1995 **Lagringsbetingelser:** 2-4 °C
Test periode: 14. des. 1995 til 11. jan. 1996.

Testbetingelser:

Apparatur: Manometrisk respirometer, WTW 2001
**Nærings-
løsning:** OECD 301 Standard mineralløsninger. Ammonia: 1.3 mg N/L i preparert testløsning.
Inokulum: Mikroorganismer fra laboratorieprodusert biologisk aktivt slam (Husmann unit) dyrket i OECD syntetisk kloakk, supplert med kommunalt kloakkvann dosert over 2 døgn før teststart. Slammet ble sentrifugert (2000 G i 10 min.) og resuspendert i BOD-nærings saltløsning for "utvasking" av løste stoffer. Denne prepareringen ble utført to ganger før slammet ble resuspendert til 6,6 g/L STS.
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 + 25 % avløpsvann i testmedium

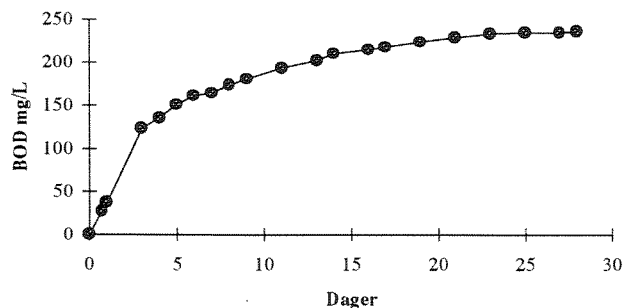
Preparering av prøve:

Avløpsvannet ble testet ved 25 % konsentrasjon i 3 parallelle testflasker for bestemmelse av biokjemisk oksygenforbruk (BOD), og 2 parallelle for løst organisk karbon (DOC). Kjemisk oksygenforbruk (COD_{Cr}) ble analysert i 1:10 fortyning.

Resultater:

Teststoff	COD _{Cr}	BOD ₂₈	DOC ₀	DOC ₂₈	DOC-red.
Blandprøve	919 mg	236 mg/l	153 mg/l	73 mg/l	52 %

BOD-kurve:



Nedbrytningsgrad:

Reduksjon; DOC: 52 %

$$\frac{BOD_{28} \cdot 100}{COD} = 26 \%$$

Oslo, den 19. februar 1996

Testet av:

Harry Eira
Harry Eira

Kvalitetsansvarlig:

Torsten Källqvist
Torsten Källqvist

Denne testrapport får kun kopieres i sin helhet og uten noen form for endringer.
Testresultatet gjelder kun for den prøve som er testet.

ANALYSER OG RESULTATER:
Test produkt: Avløpsvann, langfibret produksjon

Lab. kode: B215/1

Test periode: 14. des. 1995 til 11. jan. 1996.

 Kjemisk oksygenforbruk, (COD_{Cr}): 919 mg/L

DOC verdier, mg/l: **Testkonsentrasjon:** 25 %

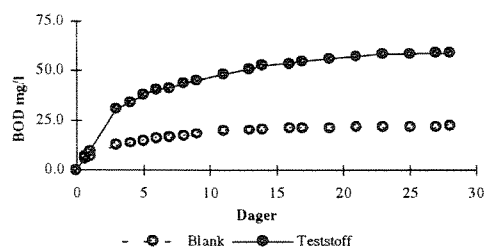
Medium	Flaske	Startverdi	28 døgn
Inokulum	C1	0.5	1.6
"	C2	0.4	1.1
"	Cmv.	0.45	1.35
Teststoff. (Fl. 6)	A1	38.2	18.5
" (Fl.7)	A2	39.2	20.6
"	Amv.	38.70	19.55
Korrigert (A-C)		38.25	18.20
DOC-reduksjon etter 28 døgn nedbrytning (%)			52

BOD-verdier i testløsningen for parallellprøvene:

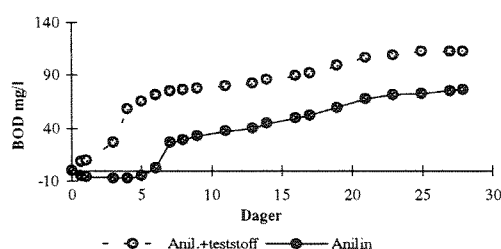
Antall døgn	5	7	14	21	28
BOD mg/l 1	36,5	39,7	52,7	55,6	57,5
BOD mg/l 2	35,8	40,4	51,4	56,3	58,4
BOD mg/l 3	39,0	42,1	52,4	59,1	60,5

 Nedbrytninggrad for referanse (anilin) etter 14 døgn (BOD₁₄ · 100/ ThOD): = 71 %

Testprøve:



Toksisitetskontroll:


Analytiske betingelser:

Biokjemisk oksygenforbruk i testløsningen er betemt 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 Dormann 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:

1. OECD Guideline for testing of chemicals, 301F Manometric respirometry "Ready biodegradability". July 1992
2. NS-ISO 9408 EN 29408 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



Kunde: Norske Skog A/S Tofte Industrier

Test produkt: Avløpsvann, kortfibret produksjon **Lab. kode:** B212/1
Prøve mottatt: 13. nov. 1995 **Lagringsbetingelser:** 2-4 °C
Test periode: 16. nov. til 14. des. 1995.

Testbetingelser:

Apparatur: Manometrisk respirometer, WTW 2001
**Nærings-
løsning:** OECD 301 Standard mineralløsninger. Ammonia: 1.3 mg N/L i preparert testløsning.
Inokulum: Mikroorganismer fra laboratorieproduert biologisk aktivt slam (Husmann unit) dyrket i OECD syntetisk kloakk, supplert med kommunalt kloakkvann dosert over 2 døgn før teststart. Slammet ble sentrifugert (2000 G i 10 min.) og resuspendert i BOD-nærings-saltløsning for "utvasking" av løste stoffer. Denne prepareringen ble utført to ganger før slammet ble resuspendert til 3,64 g/L STS.
 Inokulumkonsentrasjon i testmediet: $2,1 \cdot 10^8$ CFU/L, 30 mg/L STS.
Inkubasjon: Temperatur: 20 ± 1 °C. Varighet: 28 dager.
pH: Start: 7,7 Slutt: 8,6
Referense: Anilin, 20 mg C/l.
**Giftighets-
kontroll:** Anilin, 20 mg C/l + 25 % avløpsvann i testmedium

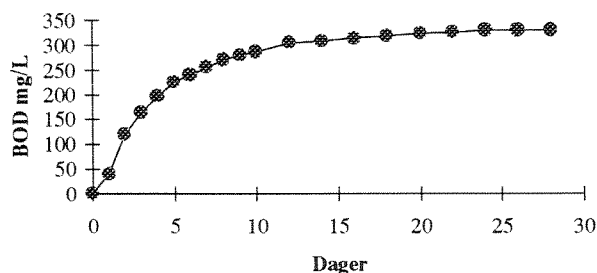
Preparering av prøve:

Avløpsvannet ble testet ved 25 % konsentrasjon i 3 parallelle testflasker for bestemmelse av biokjemisk oksygenforbruk (BOD), og løst organisk karbon (DOC).
 Kjemisk oksygenforbruk (COD_{Cr}) ble analysert på ufortynnet prøve.

Resultater:

Teststoff	COD_{Cr}	BOD_{28}	DOC_0	DOC_{28}	DOC-red.
Blandprøve	470 mg/l	330 mg/l	157 mg/l	47 mg/l	70 %

BOD-kurve:



Nedbrytningsgrad:

Reduksjon; DOC: 70 %

$$\frac{BOD_{28} \cdot 100}{COD} = 70 \%$$

Oslo, den 19. februar 1996

Testet av: Harry Eframsen
Harry Eframsen

Kvalitetsansvarlig: Torsten Källqvist
Torsten Källqvist

Denne testrapport får kun kopieres i sin helhet og uten noen form for endringer.
 Testresultatet gjelder kun for den prøve som er testet.

ANALYSER OG RESULTATER:
Test produkt: Avløpsvann, kortfibret produksjon

Lab. kode: B212/1

Test periode: 16. nov. til 14. des. 1995.

 Kjemisk oksygenforbruk, (COD_{Cp}): 470 mg/L

DOC verdier, mg/l: **Testkonsentrasjon: 25 %**

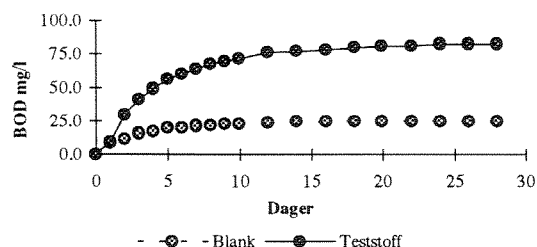
Medium	Flaske	Startverdi	28 døgn
Inokulum	C1	0.7	1.3
"	C2	0.8	1.3
"	Cmv.	0.75	1.30
Teststoff. (Fl. 6)	A1	39.3	13.1
" (Fl. 7)	A2	40.2	12.6
" (Fl 8)	A3		13
"	Amv.	39.75	13.05
Korrigert (A-C)		39.00	11.75
DOC-reduksjon etter 28 døgn nedbrytning (%)			70

BOD-verdier i testløsningen for parallellprøvene:

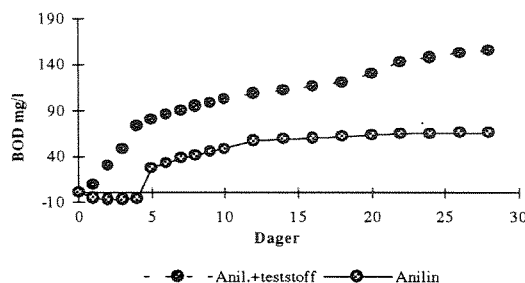
Antall døgn	5	7	14	21	28
BOD mg/l 1	55,9	63,6	76,5	79,9	81,4
BOD mg/l 2	56,3	64,0	77,4	82,1	83,3
BOD mg/l 3	53,8	61,1	75,2	78,8	79,6

 Nedbrytninggrad for referanse (anilin) etter 14 døgn (BOD₁₄ · 100/ ThOD): = 72 %

Testprøve:



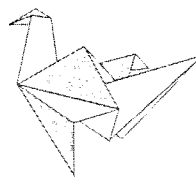
Toksitetetskontroll:


Analytiske betingelser:

Biokjemisk oksygenforbruk i testløsningen er betemt 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_{Cp}) er analysert etter NS 4748. NO₃-N er analysert etter NS 4745 (Autoanalyser Method).

REFERENSE:

1. OECD Guideline for testing of chemicals, 301F Manometric respirometry "Ready biodegradability". July 1992
2. NS-ISO 9408 EN 29408 Water Quality- Evaluation in a aqueous medium of the "ultimate" biodegradability of organic compounds- Method by determining the oxygen demand in closed respiromerter.



ATO

NIVA
Postboks 173 Kjelsås

0411 OSLO

Att: Harry Efraimsen / August Tobiesen

NORSK INSTITUTT FOR VANNFORSKNING
J.nr.: 778/96
Sak nr.: 0-95253
Mottatt: 18.03.96



Akkreditert
laboratorium for
kjemisk prøving

NORSK
AKKREDITERING
Nr. P026

1996-03-15
21090/GJ/kb

ANALYSERAPPORT

Økotoksikologisk testing

Dato for prøvemottak : 1995-11-16


Se vedlagt ark.

Måleusikkerhet : tot P : 15 %, tot N : 10 %

Andre merknader : Gjør oppmerksom på at alle resultater er beregnet på prøvene slik vi fikk dem. Det er ikke korrigert for noen fortynninger foretatt før vi mottok prøvene.

Resultatene gjelder kun analyser av de tilsendte prøver.

Med hilsen
PAPIRINDUSTRIENS FORSKNINGSINSTITUTT


Gerd Jørgensen
Oppdragskoordinator

Rapporten skal ikke gjengis i utdrag, kun hele rapporten kan gjengis uten skriftlig godkjenning.

* akkreditert metode
** metode søkt akkreditert

Side 1 av 1

Parameter	Metode	Analysedato	Resultat B212
Tot. P	NS 4725 + FIA	6/12-95	2,07 mg/l
Tot. N	SS 028101	6/12-95	1,8 mg/l

Parameter	Metode	Analysedato	Resultat, mg/l	
			B212	B212 - 28 d
Pimaric acid	GC-MS	Mars -96	0,041	0,004
Sandaracopimaric acid	GC-MS	Mars -96	0,004	0,003
Isopimaric acid	GC-MS	Mars -96	0,011	0,002
Palustric acid	GC-MS	Mars -96	nd	nd
Levopimaric acid	GC-MS	Mars -96	nd	nd
Dehydroabietic acid	GC-MS	Mars -96	0,068	0,009
Abietic acid	GC-MS	Mars -96	0,015	nd
Neoabietic acid	GC-MS	Mars -96	nd	nd
SUM Harpikssyrer			0,139	0,018
Pinoleic acid 1)	GC-MS	Mars -96	nd	nd
Linoleic acid 1)	GC-MS	Mars -96	0,014	nd
Oleic acid 1)	GC-MS	Mars -96	0,028	0,011
SUM Fettsyrer			0,042	0,011
Campesterol 2)	GC-MS	Mars -96	0,012	nd
β -sitosterol	GC-MS	Mars -96	0,154	0,017
β -sitostanol 3)	GC-MS	Mars -96	0,172	0,010
SUM Steroler			0,338	0,027
Potensiell bioakkumulerbarhet 4)	GC-MS	Mars -96	1,45	0,14
Toksisitet overfor Microtox	5)	25/10-95	EC ₅₀ = 64,7% (41,5 - 100)	EC ₅₀ > 100%

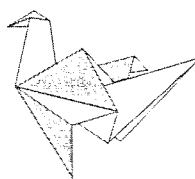
1) Beregnet ut fra kalibreringskurve av heptadekansyre

2) Beregnet ut fra kalibreringskurve av kolesterol

3) Beregnet ut fra kalibreringskurve av β -sitosterol

4) Beregnet som 4,4'-dibromo-octafluorobifenyyl

5) Metoden er utført som beskrevet i Microtox-manualen "How to run toxicity tests using Microtox Model 500". Microbics Corporation, Carlsbad, California, USA



ATO

NIVA
Postboks 173 Kjelsås

0411 OSLO

Att: Harry Efraimssen / August Tobiesen

NORSK INSTITUTT FOR VANNFORSKNING
J.nr.: 777/96
Sak nr.: 0-95253
Mottatt: 18.03.96



Akkreditert
laboratorium for
kjemisk prøving

1996-03-15
21114/GJ/kb

ANALYSERAPPORT

Økotoksikologisk testing

Dato for prøvemottak : 1995-12-14

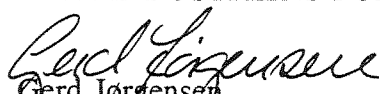
Se vedlagt ark.

Måleusikkerhet : tot P : 15 %, tot N : 10 %

Andre merknader : Gjør oppmerksom på at alle resultater er beregnet på prøvene slik vi fikk dem. Det er ikke korrigert for noen fortynninger foretatt før vi mottok prøvene.

Resultatene gjelder kun analyser av de tilsendte prøver.

Med hilsen
PAPIRINDUSTRIENS FORSKNINGSINSTITUTT


Gerd Jørgensen
Oppdragskoordinator

Rapporten skal ikke gjengis i utdrag, kun hele rapporten kan gjengis uten skriftlig godkjenning.

- * akkreditert metode
- ** metode søkt akkreditert

Parameter	Metode	Analysedato	Resultat for B215
Tot. P	NS 4725 + FIA	15/1-96	710 µg/l
Tot. N	SS 028101	2/2-96	1,55 mg/l

Parameter	Metode	Analysedato	Resultat, mg/l	
			B215	B215 - 28d
Pimaric acid	GC-MS	Mars -96	0,059	0,004
Sandaracopimaric acid	GC-MS	Mars -96	0,016	0,001
Isopimaric acid	GC-MS	Mars -96	0,060	0,004
Palustric acid	GC-MS	Mars -96	nd	nd
Levopimaric acid	GC-MS	Mars -96	nd	nd
Dehydroabietic acid	GC-MS	Mars -96	0,139	0,009
Abietic acid	GC-MS	Mars -96	0,061	0,004
Neoabietic acid	GC-MS	Mars -96	nd	nd
SUM Harpikssyrer			0,335	0,022
Pinoleic acid 1)	GC-MS	Mars -96	nd	nd
Linoleic acid 1)	GC-MS	Mars -96	0,017	0,006
Oleic acid 1)	GC-MS	Mars -96	0,035	0,011
SUM Fettsyrer			0,052	0,017
Campesterol 2)	GC-MS	Mars -96	0,028	0,006
β-sitosterol	GC-MS	Mars -96	0,088	0,019
β-sitostanol 3)	GC-MS	Mars -96	0,020	0,003
SUM Steroler			0,136	0,028
Potensiell bioakkumulerbarhet 4)	GC-MS	Mars -96	1,48	0,13
Toksisitet overfor Microtox	5)	25/10-95	EC ₅₀ = 49,8% (44,3 - 55,9)	EC ₅₀ > 100%

nd: ikke påvist

1) Beregnet ut fra kalibreringskurve av heptadekansyre

2) Beregnet ut fra kalibreringskurve av kolesterol

3) Beregnet ut fra kalibreringskurve av β-sitosterol

4) Beregnet som 4,4'-dibromo-octafluorobifenyyl

5) Metoden er utført som beskrevet i Microtox-manualen "How to run toxicity tests using Microtox Model 500". Microbics Corporation, Carlsbad, California, USA

Norsk
Institutt
for
Vannforskning

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

TEST RAPPORT

Akutt toksisitet - juvenil Piggvar (Semistatisk eksponering) *Scophthalmus maximus*

Teststoff: Avløpsvann fra Kortfiber produksjon **Lab. kode:** B212/1

Kunde: Norsk Skog Tofte Industrier **Prøve motatt:** 15.11.95

Testmetode

Testen er utført i overensstemmelse med utkastet til PARCOM toksistets test slik det er beskrevet av Phil McWilliams, TERRA Environmental Laboratory A/S 1994 i "Draft procedure, Acute test with juvenile turbot *Scophthalmus maximus*", testen bygger på "OECD Guidelines for testing of chemicals" (No. 203; Fish, acute toxicity test).

Testorganisme

Juvenile Piggvar (*Scophthalmus maximus*), med middelvekt 5.1 g og middel lengde 6.5 cm. Fisken var hentet fra Tinfos Aqua A/S i Rogaland. Godkjennelse av bruk og transport av piggvar ble gitt 2 november 1995 av Torill Malmstrøm, Fylkesveterinæren for Oslo, Akershus og Østfold.

TEST BETINGELSER

Test metode:	Draft PARCOM test Akutt test på juvenile piggvar
Test organisme:	Piggvar <i>Scophthalmus maximus</i>
Test parameter:	Mortalitet observert hvert døgn i 4 døgn.
Opprinnelse av fisk:	Tinfos Aqua, Piggvar klekket i uke 33
Ankomst Solbergstrand:	Piggvar ankom Solberstrand 7.11.95
Start dato:	20.11.95
Test konsentrasjoner:	5.6, 10, 18, 32 og 56 %
Tillaging av prøver	Avløpsvannet blandet med Sjøvann fra 60m dyp i Drøbak.
Test medium:	60 m sjøvann fra Drøbak
Test kar:	25 l glass akvarium plassert i et temperaturkontrollert vannbad
Test betingelser	
Lys:	12h lys : 12 h mørke med dagslys type lysstoffrør
Temperatur:	Målt med temperatur logger gjennom hele forsøket snittverdi var 14.4°C med en SD på 1.2 °C
pH:	kontroll: start: 7.9 slutt: 7.4, høyeste konsentrasjon: start: 7.5 slutt: 7.5
Oksygen:	>70% metning, untatt siste dag i 5.6 %
Salinitet i kontroll:	i kontroll: 3.47 ‰ S, i høyeste konsentrasjon: 1.64 ‰ S
Beregning av LC ₅₀ *	Kumulativ prosent mortalitet er plottet mot log konsentrasjon på log papir. LC50 beregnes grafisk eller statistisk med Probit metoden når mulig.
Beregning av NOEC **	t-test (p<0.05)

*LC₅₀ = Den konsentrasjon som gir 50% dødelighet av testorganismen

** NOEC = Høyeste testede konsentrasjon uten signifikant effekt

Denne rapport får kun kopieres i sin helhet og uten noen form for endring.
Testresultatene gjelder kun for den prøve som er testet.

Utførelse

Forsøket ble utført i glassakvarier med 25 l vann og 7 fisk i hver konsentrasjon av avløpsvann. Gjennomsnittsvekten var 5.1 g. Konsentrasjoner testet var 5.6, 10, 18, 32 og 56 %. Antall konsentrasjoner testet og høyeste konsentrasjon testet var begrenset av disponibelt volum av avløpsvannet. Avløpsvannet ble fortynnet direkte i testkarene til de aktuelle konsentrasjoner. Testfiskene ble overført til ny løsning hvert døgn (semistatisk metode) og forsøket pågikk i 4 døgn. Fiskemengden i forsøket var på 1.4 g fisk per liter dette er > 1.0 g fisk per liter som er foreskrevet i standarden, derfor ble alle akvarier luftet forsiktig for å opprettholde gassbalansen i løsningene. Konsentrasjonen av løst oksygen ved vannskift var 70-88 % av metningskonsentrasjonen, untatt i laveste konsentrasjon (5.6 %) hvor det siste dag ble målt en oksygenmetningen på 63 %. Fisken ble observert hvert døgn og død fisk ble notert og fjernet. Temperaturen ble målt hvert 6 minutt med en temperaturlogger under forsøket og ga en middeltemperatur på 14.4 °C med standard avvik 1.2 °C.

Resultater

I tabell 1 er dødeligheten oppført for hver konsentrasjon av avløpsvann. Det ble ikke foretatt noen justering av saltholdighet i prøvene og heller ikke noen kontroll med mortalitet ved redusert saltholdighet, dette fordi piggvar utmerket godt kan ales opp i brakkvann. Ifølge Joacim Stross ved Tinfoss Aqua så medfører saltholdighet ned til 1.5 % ingen reduksjon i vekt eller kondisjon hos piggvar relativt til piggvar alt opp ved full saltholdighet.

Avvik fra protokoll

Oksygenmetningprosenten skal til enhver tid ligge over 70 %. Oksygenmetning ble målt til 63 % i 5.6 % konsentrasjonen ved avslutning siste dag.

Vurdering av avvik fra protokoll

Det var ingen dødelighet i 5.6 %, den reduserte oksygenmetningen får derfor ingen betydning for resultatet av denne testen.

Tabell 1. Kumulativt antall (%) døde fisk ved forskjellig eksponeringstid. LC50 ved ulike tidspunkt angitt nederst i tabellen.

Konsentrasjon (%)	Timer			
	24	48	72	96
0 (kontroll)	0	0	0	0
5.6	0	0	0	0
10	0	0	0	0
18	0	0	0	0
32	0	0	0	0
56	0	0	0	0
LC50	>56 %	>56 %	>56 %	>56 %

Konklusjon

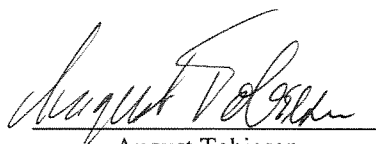
Testresultatene er summert i tabell 2. Fordi ingen konsentrasjon ga dødelighet, er det ikke mulig å beregne en LC50 for dette avløpsvannet. Både NOEC og LOEC må derfor antas å ligge over høyeste testede konsentrasjon, lik 56 %.

Tabell 2. Testresultater med utslippsvann fra Tofte Industrier tatt 14.11.95.

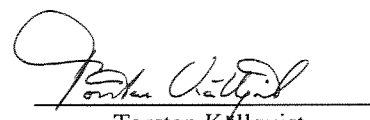
Test parameter	Benevnelse	LC50	NOEC	LOEC*
Mortalitet	%	>56	>56	>56

*LOEC er Lowest concentration with effect

Testen utført av:


August Tobiesen

Testansvarlig:


Torsten Kallqvist

Norsk
Institutt
for
Vannforskning

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

TEST RAPPORT

Akutt toksisitet - juvenil Piggvar (Semistatisk eksponering) *Scophthalmus maximus*

Teststoff: Avløpsvann fra Langfiber produksjon **Lab. kode:** B215/1
Kunde: Norsk Skog Tofte Industrier **Prøve motatt:** 13.12.95

Testmetode

Testen er utført i overensstemmelse med utkastet til PARCOM toksistets test slik det er beskrevet av Phil McWilliams, TERRA Environmental Laboratory A/S 1994 i "Draft procedure, Acute test with juvenile turbot *Scophthalmus maximus*", testen bygger på "OECD Guidelines for testing of chemicals" (No. 203; Fish, acute toxicity test).

Testorganisme

Juvenile Piggvar (*Scophthalmus maximus*), med middelvekt 5.1 g og middel lengde 6.5 cm. Fisken var hentet fra Tinfos Aqua A/S i Rogaland. Godkjennelse av bruk og transport av piggvar ble gitt 2 november 1995 av Torill Malmstrøm, Fylkesveterinæren for Oslo, Akershus og Østfold.

TEST BETINGELSER

Test metode:	Draft PARCOM test Akutt test på juvenile piggvar
Test organisme:	Piggvar <i>Scophthalmus maximus</i>
Test parameter:	Mortalitet observert hvert døgn i 4 døgn.
Opprinnelse av fisk:	Tinfos Aqua, Piggvar klekket i uke 33
Ankomst Solbergstrand:	Piggvar ankom Solberstrand 7.11.95
Start dato:	20.11.95
Test konsentrasjoner:	5.6, 10, 18, 32 og 56 %
Tillaging av prøver:	Avløpsvannet blandet med Sjøvann fra 60m dyp i Drøbak.
Test medium:	60 m sjøvann fra Drøbak
Test kar:	25 l glass akvarium plassert i et temperaturkontrollert vannbad
Test betingelser	
Lys:	12h lys : 12 h mørke med dagslys type lysstoffrør
Temperatur:	Målt med temperatur logger gjennom hele forsøket snittverdi var 14.4°C med en SD på 1.2 °C
pH:	kontroll: start: 8.0 slutt: 7.7, høyeste konsentrasjon: start: 6.9 slutt: 7.5
Oksygen:	>70% metning, untatt 10 målinger som ga verdier i området 60-69 %
Salinitet i kontroll:	i kontroll: 3.47 % S, i høyeste konsentrasjon: 1.64 % S
Beregning av LC ₅₀ *	Kumulativ prosent mortalitet er plottet mot log konsentrasjon på log papir. LC50 beregnes grafisk eller statistisk med Probit metoden når mulig.
Beregning av NOEC **	t-test (p<0.05)

*LC₅₀ = Den konsentrasjon som gir 50% dødelighet av testorganismen

** NOEC = Høyeste testede konsentrasjon uten signifikant effekt

Denne rapport får kun kopieres i sin helhet og uten noen form for endring.
Testresultatene gjelder kun for den prøve som er testet.

Utførelse

Forsøket ble utført i glassakvarier med 25 l vann og 7 fisk i hver konsentrasjon av avløpsvann. Gjennomsnittsverken på fisken var 6.6 g. Konsentrasjoner testet var 5.6, 10, 18, 32 og 56 %. Antall konsentrasjoner testet og høyeste konsentrasjon testet var begrenset av disponibelt volum av avløpsvannet. Avløpsvannet ble fortynnet direkte i testkarene til de aktuelle konsentrasjoner. Testfiskene ble overført til ny løsning hvert døgn (semistatisk metode) og forsøket pågikk i 4 døgn. Fiskemengden i forsøket var på 1.9 g fisk per liter dette er > 1.0 g fisk per liter som er foreskrevet i standarden, derfor ble alle akvarier luftet forsiktig for å opprettholde gassbalansen i løsningene. Konsentrasjonen av løst oksygen ved vannskift var 70-88 % av metningskonsentrasjonen, untatt i laveste konsentrasjon (5.6 %) hvor det siste dag ble målt en oksygenmetningen på 63 %. Fisken ble observert hvert døgn og død fisk ble notert og fjernet. Temperaturen ble målt hvert 6 minutt med en temperaturlogger under forsøket og ga en middeltemperatur på 15.6 °C med standard avvik 0.38 °C.

Resultater

I tabell 1 er dødeligheten oppført for hver konsentrasjon av avløpsvann. Det ble ikke foretatt noen justering av saltholdighet i prøvene og heller ikke noen kontroll med mortalitet ved redusert saltholdighet, dette fordi piggvar utmerket godt kan ales opp i brakkvann. Ifølge Joacim Stross ved Tinfoss Aqua så medfører saltholdighet ned til 1.5 % ingen reduksjon i vekt eller kondisjon hos piggvar relativt til piggvar alt opp ved full saltholdighet.

Avvik fra protokoll

Oksygenmetningprosenten skal til enhver tid ligge over 70 %. Oksygenmetning ble målt til 63 % i 5.6 % konsentrasjonen ved avslutning siste dag.

Vurdering av avvik fra protokoll

Det var ingen dødelighet i 5.6 %, den reduserte oksygenmetningen får derfor ingen betydning for resultatet av denne testen.

Tabell 1. Kumulativt antall (%) døde fisk ved forskjellig eksponeringstid. LC50 ved ulike tidspunkt angitt nederst i tabellen.

Konsentrasjon (%)	Timer			
	24	48	72	96
0 (kontroll)	0	0	0	0
5.6	0	0	0	0
10	0	0	0	0
18	0	0	0	0
32	0	0	0	0
56	0	0	0	0
LC50	>56 %	>56 %	>56 %	>56 %

Konklusjon

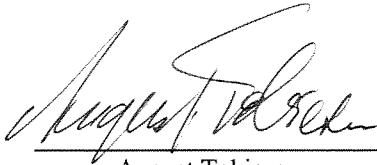
Testresultatene er summert i tabell 2. Fordi ingen konsentrasjon ga dødelighet, er det ikke mulig å beregne en LC50 for dette avløpsvannet. Både NOEC og LOEC må derfor antas å ligge over høyeste testede konsentrasjon, lik 56 %.

Tabell 2. Testresultater med utslippsvann fra Tofte Industrier tatt 13.12.95.


Test parameter	Benevnelse	LC50	NOEC	LOEC*
Mortalitet	%	>56	>56	>56

*LOEC er Lowest concentration with effect

Testen utført av:


August Tobiesen

Testansvarlig:


Torsten Källqvist

Teststoff: **Avløpsvann fra langfiber produksjon**
 Oppdragsgiver: Norske Skog, Tofte Industrier

 Lab. kode: **B215/1**
 Mottatt: 13.12.95

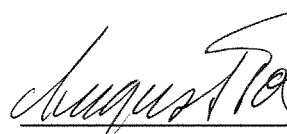
Testbetingelser

Organisme: *Skeletonema costatum* NIVA BAC1
 Testparameter: Veksthastighet fra start til 72 timer
 Stamkultur: Semi-kontinuerlig i nat. sjøvann +10% Z8 vekstmedium (Staub 1961)
 Start dato: 19.12.95
 Konsentrasjoner: 1.0, 3.2, 5.6, 10, 32 og 56 % av avløpsvann i testmedium
 Test medium: ISO 10253 med Fe redusert til 33 mg/l, Zn: 15 mg/l, Na₂EDTA: 200 mg/l
 Forbehandling av prøve: Avløpsvannet ble tilsatt næringsalter og kunstig sjøsalt (SS028189) inntil en saltholdighet på 32 g/L.
 Inkuberingsutstyr: Gyngebord
 Dyrkingsflasker: 100 ml ståkolber med 50 ml medium
 Lys: Ca. 75 mE m² s⁻¹, kontinuerlig fra dagslys-type lysstoffrør
 Temperatur: 20.9 - 21.6 °C
 pH i kontroll: Start : 8.0 Slutt: 8.8
 pH i høyeste konsentrasjon: Start : 7.3 Slutt: 8.2
 Vekstmåling: Coulter Multisizer
 Beregning av EC₅₀ *: Probit-transformering og lineær regresjon av probit-verdier mot log konsentrasjon
 Beregning av NOEC *: t-test (p<0.01)

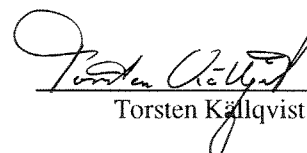
Resultater Celletetthet på hvert målepunkt, det beregnede areal under vekstkurve og veksthastighet i hver kolbe er vist på vedlagt skjema. Middelveidier for kontroller og ved ulike konsentrasjoner av teststoff er listet lengst ned på skjemaet. Vekstkurver for hver konsentrasjon av teststoffet er vist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

Parameter	Enhet	EC ₅₀	95% konf. int.	EC ₁₀	95% konf. int.	NOEC
Veksthastighet	%	12.6	10.7-14.8	7.6	6.5-8.7	5.6

Testet av:


 August Tobiesen

Testansvarlig:


 Torsten Kjällqvist

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

* NOEC = Høyeste testede konsentrasjon uten signifikant effekt

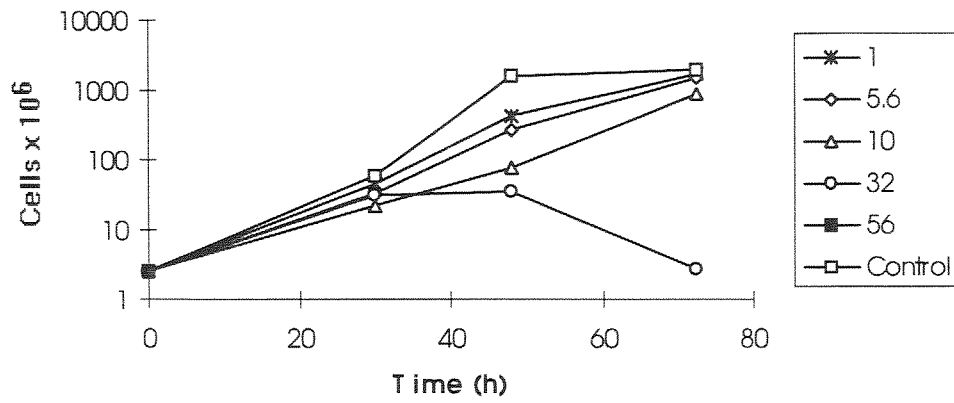


Fig. 1. Vekstkurver for *Skeletonema costatum* i ulike konsentrasjoner av blandprøve, avløpsvann

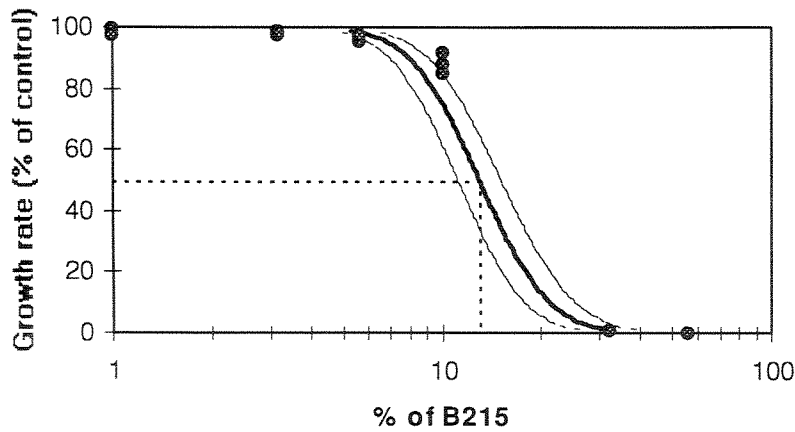


Fig. 2. Effekt av blandprøve, avløpsvann på vekstshastigheten til *Skeletonema costatum*.

Referanser:

ISO/DIS 10253 : Water quality - Marine algal growth inhibition test

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

TEST:>> ISO 10253
 COMPOUND >>>> Utslipp langfibret produksjon
 TEST ALGA >>>> *Skeletonema costatum*
 INOCULUM >>>> 2.5 mill. cells/l

Date >> 19.12.95
 Lab. code >>>>> B215/1
 Medium> Seawater ISO

	Hours:	Day 1	Day 2	Day 3	Area	Area %	G. rate	G. rate%
Cons.	%	30 mill/l	48 mill/l	72.5 mill./l				
	1 "	46	424	1788	31873	53	2.18	98
	1 "	44	436	1579	29520	49	2.13	96
	1 "	48	413	1584	29189	48	2.14	96
	3.2 "	54	610	1579	33458	56	2.13	96
	3.2 "	51	620	1738	35546	59	2.17	97
	3.2 "	41	365	1651	28821	48	2.15	96
	5.6 "	33	282	1400	23791	39	2.09	94
	5.6 "	29	231	1587	24902	41	2.14	96
	5.6 "	33	286	1574	26007	43	2.13	96
	10 "	20	71	827	11976	20	1.92	86
	10 "	22	76	711	10709	18	1.87	84
	10 "	22	90	1095	15711	26	2.01	90
	32 "	31	39.0	2.6	1461	2	0.01	1
	32 "	31	32.0	2.6	1312	2	0.01	1
	32 "	31	36.0	2.6	1397	2	0.01	1
	56 "							
	56 "							
	56 "							
	"							
	"							
	"							
Control		59	471	2079	36749	61	2.23	100
		56	551	2277	40802	68	2.26	101
		57	529	2075	37884	63	2.23	100
		55	575	2038	38361	64	2.22	99
		55	574	1989	37739	63	2.21	99
		65	6657	2206	169901	282	2.25	101

MEAN VALUES

mg/l

1.00 Mv:	46.00	424.33	1650.33	30194	50.12	2.15	96.34
St. d.	1.63	9.39	97.37	1195	1.98	0.02	0.86
3.20 Mv.	48.67	531.67	1656.00	32608	54.13	2.15	96.40
St. d.	5.56	117.92	65.01	2810	4.67	0.01	0.58
5.60 Mv.	31.67	266.33	1520.33	24900	41.34	2.12	95.12
St. d.	1.89	25.04	85.25	905	1.50	0.02	0.85
10.00 Mv.	21.33	79.00	877.67	12798	21.25	1.93	86.75
St. d.	0.94	8.04	160.81	2123	3.52	0.06	2.66
32.00 Mv.	31.00	35.67	2.60	1390.02	2.31	0.01	0.58
St. d.	0.00	2.87	0.00	60.93	0.10	0.00	0.00
56.00 Mv.	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
St. d.	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
Mv.	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
St. d.	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
Control Mv.	57.83	1559.50	2110.67	60239	100.00	2.23	100.00
St. d.	3.48	2279.94	99.26	49058	81.44	0.02	0.69
Coefficient of variation in control (%):					81.43815		0.690084

Teststoff: Avløpsvann fra kortfiber produksjon
Oppdragsgiver: Norske Skog Tofte Industrier

Lab. kode: B212/1
Mottatt: 14.11.95

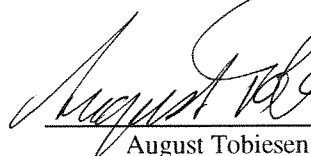
Testbetingelser

Organisme: *Skeletonema costatum* NIVA BAC1
 Testparameter: Veksthastighet fra start til 72 timer
 Stankultur: Semi-kontinuerlig i nat. sjøvann +10% Z8 vekstmedium (Staub 1961)
 Start dato: 16 november 1995
 Konsentrasjoner: 1.0, 3.2, 5.6, 10, 32 og 56 % of avløpsvann i medium
 Test medium: ISO 10253 med Fe redusert til 33 mg/l, Zn: 15 mg/l, Na₂EDTA: 200 mg/l
 Forbehandling av prøve: Avløpsvannet ble tilsatt næringsalter og kunstig sjøsalt (SS028189) slik at saltholdigheten ble 32g/L
 Inkuberingsutstyr: Gyngebord
 Dyrkingsflasker: 100 ml ståkolber med 50 ml medium
 Lys: Ca. 75 mE m² s⁻¹, kontinuerlig fra dagslys-type lysstoffrør
 Temperatur: 20.8 - 21.4 °C
 pH i kontroll: Start : 8.1 Slutt: 8.9
 pH i høyeste konsentrasjon: Start : 7.8 Slutt: 8.3
 Vekstmåling: Coulter Multisizer
 Beregning av EC₅₀ *: Probit-transformering og lineær regresjon av probit-verdier mot log konsentrasjon
 Beregning av NOEC *: t-test (p<0.01)

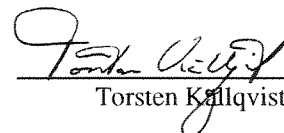
Resultater Celletetthet på hvert målepunkt, det beregnede areal under vekstkurve og veksthastighet i hver kolbe er vist på vedlagt skjema. Middelerverdier for kontroller og ved ulike konsentrasjoner av teststoff er listet lengst ned på skjemaet. Vekstkurver for hver konsentrasjon av teststoffet er vist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

Parameter	Enhet	EC ₅₀	95% konf. int.	EC ₁₀	95% konf. int.	NOEC
Veksthastighet	%	12.1	10.9-13.4	20.3	7.2	5.6

Testet av:


 August Tobiesen

Testansvarlig:


 Torsten Kjølvist

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

* NOEC = Høyeste testede konsentrasjon uten signifikant effekt

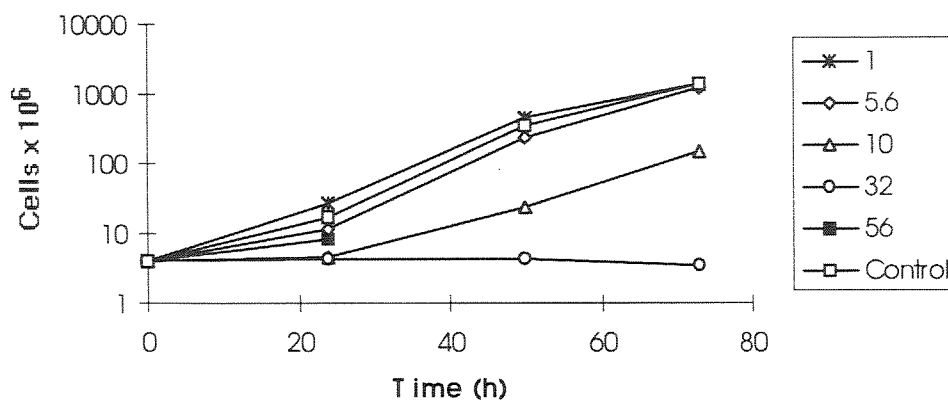


Fig. 1. Vekstkurver for *Skeletonema costatum* i ulike konsentrasjoner av avløpsvann fra kortfibret produksjon.

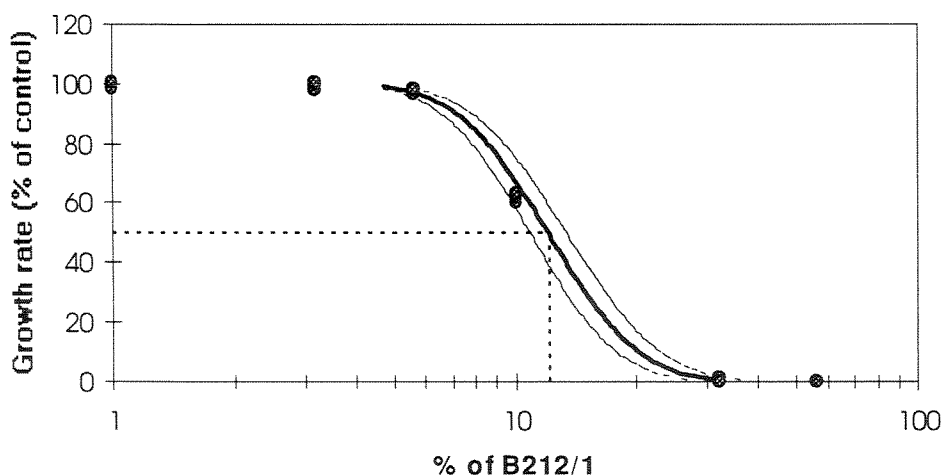


Fig. 2. Effekt av avløpsvann fra kortfibret produksjon på veksthastigheten til *Skeletonema costatum*.

Referanser:

ISO/DIS 10253 : Water quality - Marine algal growth inhibition test

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

TEST:>> ISO 10253

Date >> 16.11.95

COMPOUND >>>> utslipp korfbret produksjon, Tofte

Lab. code >>>> B212/1

TEST ALGA >>>> *Skeletonema costatum*

Medium> Seawater ISO

INOCULUM >>>> 3.9 mill. cells/l

Cons.	Hours: %	Day 1	Day 2	Day 3	Area	Area %	G. rate	G. rate%
		24 mill/l	50 mill/l	73 mill/l				
1	"	30	450	1328	26799	106	1.92	99
1	"	22	375	1327	24768	98	1.92	99
1	"	31	568	1502	31714	125	1.96	101
3.2	"	30	612	1271	30125	119	1.90	98
3.2	"	25	541	1414	29893	118	1.94	100
3.2	"	28	588	1449	31532	124	1.95	100
5.6	"	10	205	1246	19374	76	1.90	98
5.6	"	12	248	1168	19570	77	1.87	97
5.6	"	12	272	1319	21895	86	1.91	99
10	"	5	27	137	2114	8	1.17	60
10	"	5	27	152	2284	9	1.20	62
10	"	5	18	158	2135	8	1.22	63
32	"	3.8	4.0	4	3	0	0.02	1
32	"	5.3	4.8	3.3	50	0	-0.05	-3
32	"	3.9	3.7	3	-14	0	-0.08	-4
56	"	10.6	0	0	27	0	#NUM!	#NUM!
56	"	7.3	0	0	-55	0	#NUM!	#NUM!
56	"	6	0	0	-88	0	#NUM!	#NUM!
"	"							
"	"							
"	"							
Control		19	346	1591	27008	106	1.98	102
		16	331	1331	23586	93	1.92	99
		19	476	1658	30971	122	1.99	103
		16	346	1333	23961	94	1.92	99
		16	299	1262	22011	87	1.90	98
		16	326	1436	24658	97	1.94	100

MEAN VALUES

mg/l

1.00 Mv:	27.47	464.33	1385.67	27760	109.44	1.93	99.46
St. d.	3.67	79.44	82.26	2916	11.50	0.02	0.99
3.20 Mv.	27.57	580.33	1378.00	30516	120.31	1.93	99.37
St. d.	2.27	29.49	77.00	724	2.85	0.02	0.96
5.60 Mv.	11.47	241.67	1244.33	20279	79.95	1.90	97.65
St. d.	0.75	27.72	61.66	1145	4.51	0.02	0.84
10.00 Mv.	4.57	24.00	149.00	2178	8.59	1.20	61.68
St. d.	0.05	4.24	8.83	76	0.30	0.02	1.02
32.00 Mv.	4.33	4.17	3.53	13.15	0.05	-0.04	-1.82
St. d.	0.68	0.46	0.48	27.12	0.11	0.04	2.22
56.00 Mv.	7.97	0.00	0.00	-38.73	-0.15	#NUM!	#NUM!
St. d.	1.94	0.00	0.00	48.41	0.19	#NUM!	#NUM!
Mv.	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
St. d.	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
Control Mv.	17.05	354.00	1435.17	25366	100.00	1.94	100.00
St. d.	1.44	56.79	144.46	2916	11.50	0.03	1.68
Coefficient of variation in control (%):					11.49566		1.679491

TEST REPORT

TITLE:
Determination of acute lethal toxicity (48h LC₅₀) of B212 to *Acartia tonsa* Dana

TEST PROTOCOL:
ISO/TC 147/SC5/WG2 (1990)

CLIENT:
NIVA
Brekkeveien 19
0411 Oslo

Attn: T. Källqvist



CLIENT REF/ORDER No:

CLASSIFICATION:

CONFIDENTIAL

TEST SUBSTANCE:
B212

TEST REF No:
60279.niv\001\acartia

STUDY DIRECTOR:

TEST STARTED:

TEST FINISHED:

Unni M. F. Torp

21/2-96

23/2-96

REPORT DATE:

NO. OF PAGES:

8/3-96

8

SUMMARY OF TEST RESULTS:

An acute lethality test was performed with *Acartia tonsa* Dana using B212 at nominal concentrations of 5.6 - 56% of the water effluent sample. The following results were obtained:

48 h LC ₅₀ :	30	%	(95% ci 26 -)
24 h LC ₅₀ :	> 56	%	(95% ci -)
48 h LC ₉₀ :	40	%	(95% ci 33 -)
48 h LC ₁₀₀ :	56	%	
48 h NOEC:	12	%	

COMMENTS: The 48 h NOEC refers to the highest test concentration in which no mortality was observed and 48 h LC₁₀₀ refers to the lowest test concentration which gives 100% mortality. These are not statistically determined values.

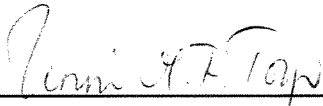

THE TEST RESULTS RELATE ONLY TO THE TEST SUBSTANCE AS SUPPLIED

This report contains information essential for the proper interpretation of the test results summarized above

The test results presented in this report were obtained from tests performed on a sample of the test substance sent to the test laboratory of TERRA Miljølaboratorium A/S, formulated according to the specifications supplied by the manufacturer or supplier at the time of testing. The test results cannot be assumed to be valid for samples resulting from subsequent modifications to the original specifications as supplied.

TERRA Miljølaboratorium A/S ACCEPTS NO RESPONSIBILITY FOR ANY USE WHICH IS MADE OF THE TEST RESULTS

TEST SUBSTANCE		
COMMERCIAL NAME:	B212	
MANUFACTURER/SUPPLIER:		
PHYSICAL DATA AND DESCRIPTION		
	DATA PROVIDED BY CLIENT (MSDS)	DETERMINED BY TEST LABORATORY
DENSITY at 20 °C	- g.cm ⁻³	- g.cm ⁻³
SOLUBILITY		Soluble in water
GENERAL COMMENTS		
Appearance:	Yellow fluid with particulate matter	
Storage:	Frozen	
Stability:	Stable under normal conditions	

QUALITY ASSURANCE STATEMENT	
<p>THIS STUDY HAS BEEN PERFORMED IN THE LABORATORIES OF TERRA Miljølaboratorium A/S (TM) IN ACCORDANCE WITH THE PRINCIPLES OF GOOD LABORATORY PRACTICE (OECD-GLP). THIS REPORT FULLY AND ACCURATELY REFLECTS THE RAW DATA GENERATED IN THE STUDY.</p> <p>A copy of this report, the study plan, raw data and other supporting documents will be stored in the archives at the offices of TERRA Miljølaboratorium A/S, Bergen High Technology Center, Thormøhlensgate 55, 5008 Bergen, Norway for a period of at least 10 years. The sample of the test substance on which this report is based, and copies of documents describing the specifications of the test substance, will be held in safe storage for a similar period.</p>	
UNNI M. F. TORP, Study Director	 Date: 20/3/96
THE FOLLOWING QUALITY ASSURANCE CHECKS WERE MADE AS PART OF THE QA AUDIT:	
<u>Study Phase</u>	<u>Date</u>
Date of most recent audit of test system	<u>7.3.96</u>
Approval of Final Report	<u>20.3.96</u>
Archiving of Documentation	<u>20.3.96</u>
<p>Test facilities, test systems, calibration of equipment, and other aspects of this study covered by quality assurance are subject to random QA inspections and audits with a minimum frequency as specified in TM's Quality Assurance Manual</p>	
PHIL McWILLIAMS, QA Officer	 Date: 20.3.96

TEST DESCRIPTION AND CONDITIONS

Test Protocol: UK Proposal to ISO TC 147/SC5/WG2 (1990)

WATER QUALITY - Determination of acute lethal toxicity to marine copepods (*Copepoda*, *Crustacea*), modified.

Test principle

Determination of the concentration of the test substance which, in 48 hours, kills 50% of exposed *Acartia tonsa* under the conditions defined in the International Standard. This concentration, known as the median lethal concentration, is designated 48 h LC₅₀. The acute lethal toxicity of the test substance is determined by exposing the marine copepod *Acartia tonsa* Dana to a range of concentrations of the test substance. The number of dead animals is registered after 24 and 48 hours, and the concentrations of test substance which give 50%, 90% and 100% mortality of the test animals (i.e. 24 h and 48 h LC₅₀, 48 h LC₉₀ and lowest concentration which gives 100% mortality within 48 h) are reported. The highest concentration of test substance which gives no mortality (48 h NOEC) is also recorded.

Definitions:	Control:	sea water and <i>Acartia tonsa</i> without the test substance
	Control 56%:	Natural sea water with 56% artificial seawater added
	48 h LC₅₀:	the concentration of test substance which, in 48 h, kills 50% of exposed <i>Acartia tonsa</i> under the test conditions
	24 h LC₅₀:	the concentration of test substance which, in 24 h, kills 50% of exposed <i>Acartia tonsa</i> under the test conditions
	48 h LC₉₀:	the concentration of test substance which, in 48 h, kills 90% of exposed <i>Acartia tonsa</i> under the test conditions
	48 h LC₁₀₀:	the lowest concentration of test substance which, in 48 h, kills 100% of exposed <i>Acartia tonsa</i> under the test conditions
	NOEC:	No Observed Effect Concentration. The highest concentration of test substance at which there is no observed mortality

Test organism and culture conditions

Acartia tonsa (Dana), originally from laboratory cultures at the Laboratory of Marine Biology, 3000 Helsingør, Denmark, are cultured at TERRA Miljølaboratorium AS. Eggs are hatched and stock cultures of *Acartia tonsa* are maintained in aerated seawater in 10 litre round, glass flasks at the test temperature of 20 ± 2 °C. Illumination is provided by cool, white fluorescent lights on a 12 h light, 12 h dark cycle. Culture are fed on cultured algal cells (*Rhodomonas baltica*).

Choice of test concentrations

Test concentrations were chosen on request from the customer. Test concentrations are normally chosen in order to give 3 or 4 partial responses between 10% and 90%.

Reference standard test

The sensitivity of the test animals is checked at regular intervals by exposure to a single concentration of 3,5,-dichlorophenol (1.0 mg.l⁻¹) as a standard reference toxicant (PARCOM). The results of the most recent reference test is given in Table 3.

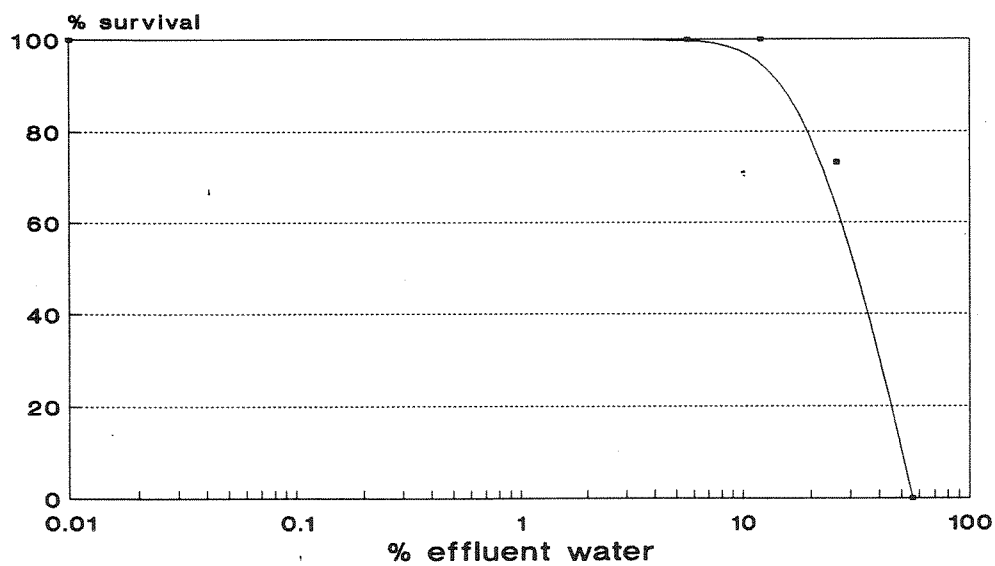
Preparation of test solutions

A sample of 100 ml B212 was salted (according to recepie from customer) in ordrer to obtain a salinity of approx. 34% (appendix. 1). This sample was used as a stock solution and was dilluted to 5.6, 12, 26 and 56% with natural seawater in order to make test solutions.

RESULTS

TABLE 1: Results of the definitive toxicity test of B212 on *Acartia tonsa*

TEST SUBSTANCE: B212			
Test dates: Start 21/2-96		End 23/2-96	
Concentration (% B212)	No. of test animals per concentration	No. of dead test animals	
		24 hours	48 hours
Controls	15	0	0
Control (56%)	15	0	0
5.6	15	0	0
12	15	0	0
26	15	0	4
56	15	2	15

FIG 1: Effect of B212 on survival of *Acartia tonsa* after 48 hours

Appendix 2: References

1. UK Proposal to ISO/TC 147/SC5/WG2. Water Quality - Determination of acute lethal toxicity to marine copepods (*Copepoda*, *Crustacea*). Second Draft, Nov 1990
2. Probit Analysis, version 2.3, National Swedish Environmental Protection Agency, The Data section, 20.03.1990.

TEST REPORT	
TITLE: Determination of acute lethal toxicity (48h LC₅₀) of B215 to <i>Acartia tonsa</i> Dana	
TEST PROTOCOL: ISO/TC 147/SC5/WG2 (1990)	
CLIENT: NIVA Brekkeveien 19 0411 Oslo Attn: T. Källqvist	



CLIENT REF/ORDER No:	CLASSIFICATION: CONFIDENTIAL	
TEST SUBSTANCE: B215	TEST REF No: 60279.niv\002\acartia	
STUDY DIRECTOR: Unni M. F. Torp	TEST STARTED: 21/2-96	TEST FINISHED: 23/2-96
	REPORT DATE: 8/3-96	NO. OF PAGES: 8

SUMMARY OF TEST RESULTS:

An acute lethality test was performed with *Acartia tonsa* Dana using B212 at nominal concentrations of 5.6 - 56% of the water effluent sample. The following results were obtained:

48 h LC ₅₀ :	32	%	(95% ci 7- 22)
24 h LC ₅₀ :	> 56	%	(95% ci -)
48 h LC ₉₀ :	49	%	(95% ci 40 - 66)
48 h LC ₁₀₀ :	56	%	
48 h NOEC:	< 5.6	%	

COMMENTS: The 48 h NOEC refers to the highest test concentration in which no mortality was observed and 48 h LC₁₀₀ refers to the lowest test concentration which gives 100% mortality. These are not statistically determined values.

THE TEST RESULTS RELATE ONLY TO THE TEST SUBSTANCE AS SUPPLIED

This report contains information essential for the proper interpretation of the test results summarized above

The test results presented in this report were obtained from tests performed on a sample of the test substance sent to the test laboratory of TERRA Miljølaboratorium A/S, formulated according to the specifications supplied by the manufacturer or supplier at the time of testing. The test results cannot be assumed to be valid for samples resulting from subsequent modifications to the original specifications as supplied.

TERRA Miljølaboratorium A/S ACCEPTS NO RESPONSIBILITY FOR ANY USE WHICH IS MADE OF THE TEST RESULTS

TEST SUBSTANCE		
COMMERCIAL NAME:	B215	
MANUFACTURER/SUPPLIER:		
PHYSICAL DATA AND DESCRIPTION		
	DATA PROVIDED BY CLIENT (MSDS)	DETERMINED BY TEST LABORATORY
DENSITY at 20 °C	- g.cm ⁻³	- g.cm ⁻³
SOLUBILITY		Soluble in water
GENERAL COMMENTS		
Appearance:	Yellow fluid with particulate matter	
Storage:	Frozen	
Stability:	Stable under normal conditions	

QUALITY ASSURANCE STATEMENT	
<p>THIS STUDY HAS BEEN PERFORMED IN THE LABORATORIES OF TERRA Miljølaboratorium A/S (TM) IN ACCORDANCE WITH THE PRINCIPLES OF GOOD LABORATORY PRACTICE (OECD-GLP). THIS REPORT FULLY AND ACCURATELY REFLECTS THE RAW DATA GENERATED IN THE STUDY.</p> <p>A copy of this report, the study plan, raw data and other supporting documents will be stored in the archives at the offices of TERRA Miljølaboratorium A/S, Bergen High Technology Center, Thormøhlensgate 55, 5008 Bergen, Norway for a period of at least 10 years. The sample of the test substance on which this report is based, and copies of documents describing the specifications of the test substance, will be held in safe storage for a similar period.</p>	
UNNI M. F. TORP, Study Director	Date: 20/3 96
THE FOLLOWING QUALITY ASSURANCE CHECKS WERE MADE AS PART OF THE QA AUDIT:	
<u>Study Phase</u>	<u>Date</u>
Date of most recent audit of test system	7.3.96
Approval of Final Report	20.3.96
Archiving of Documentation	20.3.96
<p>Test facilities, test systems, calibration of equipment, and other aspects of this study covered by quality assurance are subject to random QA inspections and audits with a minimum frequency as specified in TM's Quality Assurance Manual</p>	
PHIL McWILLIAMS, QA Officer	Date: 20.3.96

TEST DESCRIPTION AND CONDITIONS

Test Protocol: UK Proposal to ISO TC 147/SC5/WG2 (1990)

WATER QUALITY - Determination of acute lethal toxicity to marine copepods (Copepoda, Crustacea)

Test principle

Determination of the concentration of the test substance which, in 48 hours, kills 50% of exposed *Acartia tonsa* under the conditions defined in the International Standard. This concentration, known as the median lethal concentration, is designated 48 h LC₅₀. The acute lethal toxicity of the test substance is determined by exposing the marine copepod *Acartia tonsa* Dana to a range of concentrations of the test substance. The number of dead animals is registered after 24 and 48 hours, and the concentrations of test substance which give 50%, 90% and 100% mortality of the test animals (i.e. 24 h and 48 h LC₅₀, 48 h LC₉₀ and lowest concentration which gives 100% mortality within 48 h) are reported. The highest concentration of test substance which gives no mortality (48 h NOEC) is also recorded.

Definitions: *Control*: sea water and *Acartia tonsa* without the test substance

Control 56%: Natural sea water with 56% artificial seawater added

48 h LC₅₀: the concentration of test substance which, in 48 h, kills 50% of exposed *Acartia tonsa* under the test conditions

24 h LC₅₀: the concentration of test substance which, in 24 h, kills 50% of exposed *Acartia tonsa* under the test conditions

48 h LC₉₀: the concentration of test substance which, in 48 h, kills 90% of exposed *Acartia tonsa* under the test conditions

48 h LC₁₀₀: the lowest concentration of test substance which, in 48 h, kills 100% of exposed *Acartia tonsa* under the test conditions

NOEC: No Observed Effect Concentration. The highest concentration of test substance at which there is no observed mortality

Test organism and culture conditions

Acartia tonsa (Dana), originally from laboratory cultures at the Laboratory of Marine Biology, 3000 Helsingør, Denmark, are cultured at TERRA Miljølaboratorium AS. Eggs are hatched and stock cultures of *Acartia tonsa* are maintained in aerated seawater in 10 litre round, glass flasks at the test temperature of 20 ± 2 °C. Illumination is provided by cool, white fluorescent lights on a 12 h light, 12 h dark cycle. Culture are fed on cultured algal cells (*Rhodomonas baltica*).

Choice of test concentrations

Test concentrations were chosen on request from the customer. Test concentrations are normally chosen in order to give 3 or 4 partial responses between 10% and 90%.

Reference standard test

The sensitivity of the test animals is checked at regular intervals by exposure to a single concentration of 3,5-dichlorophenol (1.0 mg.l⁻¹) as a standard reference toxicant (PARCOM). The results of the most recent reference test is given in Table 3.

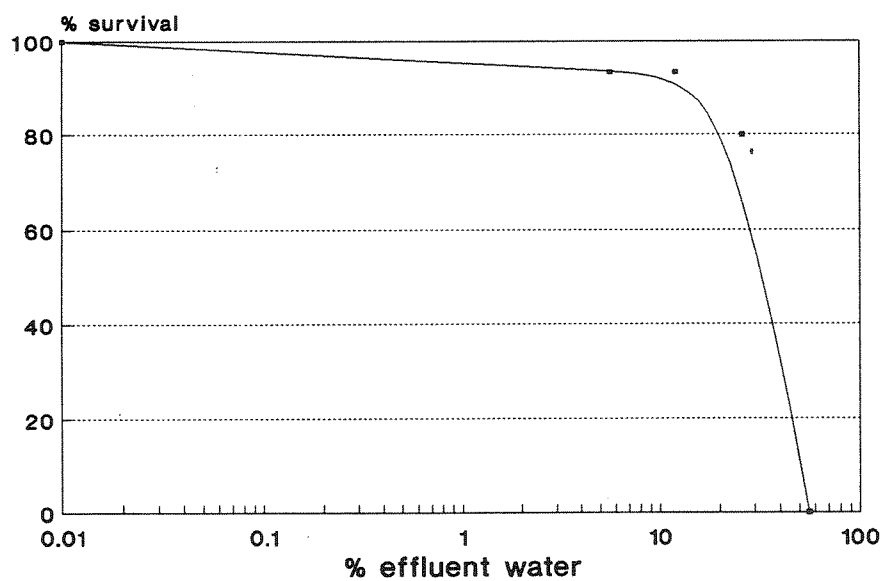
Preparation of test solutions

A sample of 100 ml B215 was salted (according to recepie from customer) in ordrer to obtain a salinity of approx. 34% (appendix 1). This sample was used as a stock solution and was dilluted to 5.6, 12, 26 and 56% with natural seawater in order to make test solutions.

RESULTS

TABLE 1: Results of the definitive toxicity test of B212 on *Acartia tonsa*

TEST SUBSTANCE: B215			
Test dates: Start 21/2-96 End 23/2-96			
Concentration (% B215)	No. of test animals per concentration	No. of dead test animals	
		24 hours	48 hours
Controls	15	0	0
Control (56%)	15	0	0
5.6	15	0	1
12	15	0	1
26	15	0	3
56	15	3	15

FIG 1: Effect of B215 on survival of *Acartia tonsa* after 48 hours

Appendix 1: Summary of test conditions

Test substance:	B215												
Test organism:	<i>Acartia tonsa</i> Dana (Copepoda, 14 days) Stock source: Laboratory of Marine Biology, 3000 Helsingør, Denmark												
Test dates:	Start: 21/2-96 End: 23/2-96												
Test duration:	48 hours												
Test system:													
<u>Controls:</u>	50 ml plastic beakers with 25 ml sterile, filtered sea water and 5 animals added per beaker, 3 replicats 50 ml plastic beakers with 56% artificial seawater, made by recipe from client, diluted with sterile, filtered natural seawater. 5 animals added per beaker, 3 replicats												
<u>Test solutions:</u>	3 replicates of each test concentration. 50 ml plastic beakers containing 25 ml test solution at the following concentrations: 5.6, 12, 26 and 56% B215 and 5 test animals per beaker.												
Test medium:	Natural SW (34 ‰), filtered (0.2 mm)												
	Artificial SW: <table border="0"> <thead> <tr> <th style="text-align: left;"><u>Salt</u></th> <th style="text-align: right;"><u>Concentration (g/L)</u></th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>NaCl</td> <td style="text-align: right;">23.5</td> </tr> <tr> <td>Na₂SO₄</td> <td style="text-align: right;">4.0</td> </tr> <tr> <td>KCl</td> <td style="text-align: right;">0.68</td> </tr> <tr> <td>MgCl₂*6H₂O</td> <td style="text-align: right;">10.8</td> </tr> <tr> <td>CaCl₂*2H₂O</td> <td style="text-align: right;">1.47</td> </tr> </tbody> </table>	<u>Salt</u>	<u>Concentration (g/L)</u>	NaCl	23.5	Na ₂ SO ₄	4.0	KCl	0.68	MgCl ₂ *6H ₂ O	10.8	CaCl ₂ *2H ₂ O	1.47
<u>Salt</u>	<u>Concentration (g/L)</u>												
NaCl	23.5												
Na ₂ SO ₄	4.0												
KCl	0.68												
MgCl ₂ *6H ₂ O	10.8												
CaCl ₂ *2H ₂ O	1.47												
Light:	12 hours light/12 hours dark												
Temperature:	20 ± 2 °C (Supporting data are stored in the archives at the offices of TERRA Miljølaboratorium A/S)												
pH:	Start: 7.1 - 7.8 End: 7.7 - 7.8												

Appendix 2: References

1. UK Proposal to ISO/TC 147/SC5/WG2. Water Quality - Determination of acute lethal toxicity to marine copepods (*Copepoda, Crustacea*). Second Draft, Nov 1990
2. Probit Analysis, version 2.3, National Swedish Environmental Protection Agency, The Data section, 20.03.1990.

Norsk institutt for vannforskning

Postboks 173 Kjelsås
0411 Oslo

Telefon: 22 18 51 00
Telefax: 22 18 52 00

Ved bestilling av rapporten,
oppgi løpenummer 3482-96

ISBN 82-577-3021-1