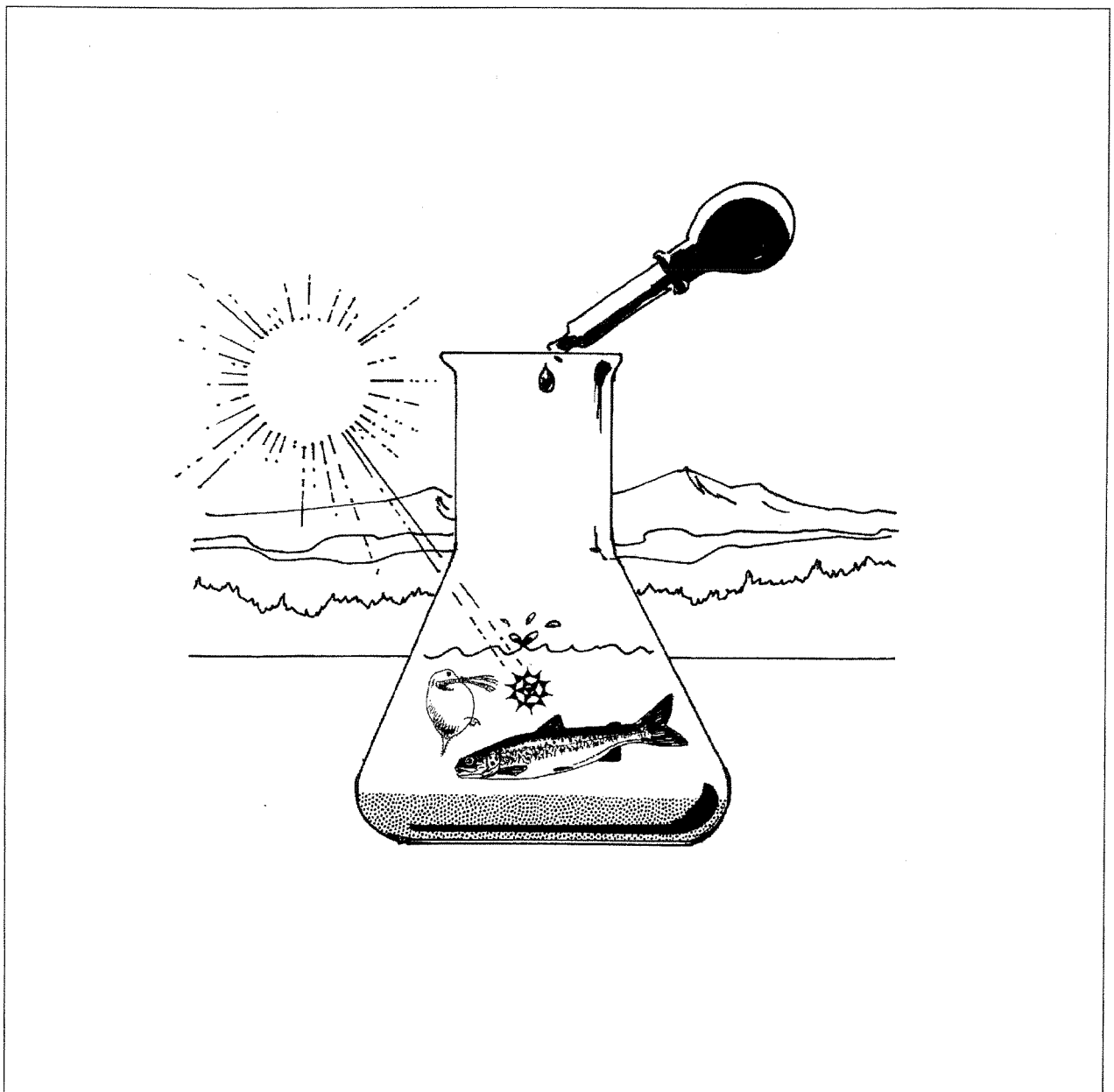


RAPPORT LNR 3737-97

Økotoxikologisk
karakterisering av
avløpsvann fra
Borregaard Synthesis



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 29 50 55
Telefax (47) 37 04 45 13

Østlandsavdelingen

Sandvikaveien 41
2312 Ottestad
Telefon (47) 62 57 64 00
Telefax (47) 62 57 66 53

Vestlandsavdelingen

Nordnesboder 5
5005 Bergen
Telefon (47) 55 30 22 50
Telefax (47) 55 30 22 51

Akvaplan-NIVA A/S

Søndre Tollbugate 3
9000 Tromsø
Telefon (47) 77 68 52 80
Telefax (47) 77 68 05 09

Tittel Økotoksikologisk karakterisering av avløpsvann fra Borregaard Synthesis Ecotoxicological characterisation of wastewater from Borregaard Synthesis	Løpenr. (for bestilling) 3737-97	Dato 10.10.97
	Prosjektnr. Undernr. O-97081	Sider Pris 47
Forfatter(e) Torsten Källqvist	Fagområde Økotoksikologi	Distribusjon
	Geografisk område Østfold	Trykket NIVA

Oppdragsgiver(e) Borregaard Synthesis	Oppdragsreferanse
--	-------------------

Sammendrag

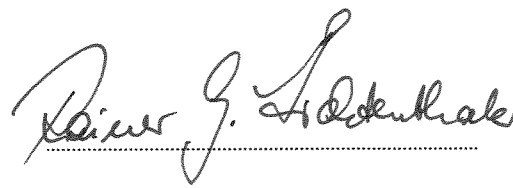
Tre prøver av avløpsvann fra ulike produksjoner ved Borregaard Synthesis er blitt karakterisert med hensyn til toksisitet overfor akvatiske organismer og biologisk nedbrytbarhet. Alle prøvene hadde et meget høyt innhold av organisk stoff (DOC = 50-73 g/l). Av de benyttede toksisitetstestene var algetesten mest følsom. EC₅₀-verdier for effekt på algenes veksthastighet var 0.3- 0.84 volumprosent. DOC-konsentrasjonen ved EC₅₀ var over 200 mg/l, som viser at de organiske komponentene i avløpsprøvene var lite giftige. Det organiske materialet var lett nedbrytbart i alle prøvene. DOC-reduksjonen etter 28 døgns nedbrytning var >90 %.

Fire norske emneord 1. Industriavløpsvann 2. Toksisitet 3. Biologisk nedbrytbarhet 4. Økotoksikologi	Fire engelske emneord 1. Industrial waste water 2. Toxicity 3. Biodegradability 4. Ecotoxicology
--	--



Prosjektleder

ISBN 82-577-3306-7



Forskningsjef

**Økotoksikologisk karakterisering av avløpsvann fra
Borregaard Synthesis**

Forord

Borregaard Synthesis henvendte seg i april 1997 til NIVA for å få utført en økotoksikologisk karakterisering av tre avløpsvannsprøver. Prøvene ble mottatt i april og juli 1997.

Oslo, 10.10 1997

Torsten Källqvist

Innhold

Sammen drag	5
Summary	6
1. BESKRIVELSE AV PRØVER	7
2. TESTPROGRAM	7
2.1 Toksisitetstester	7
2.2 Nedbrytbarhetstester	8
3. RESULTAT	8
3.1 Toksisitet	8
3.2 Nedbrytbarhet	9
4. KOMMENTARER	10
5. VEDLEGG 1	11
6. VEDLEGG 2	21
7. VEDLEGG 3	28
8. VEDLEGG 4	38

Sammendrag

Tre avløpsvannsprøver fra ulike produksjoner på Borregaard Synthesis, Sarpsborg er karakterisert med hensyn til toksisitet og biologisk nedbrytbarhet. Toksisitetstestene omfattet alger (*Selenastrum capricornutum*), Dafnier (vannlopper, *Daphnia magna*) og fisk (ørret, *Salmo trutta*).

Alle tre prøvene hadde et meget høyt innhold av løste organiske forbindelser. (50-73 g/l). Testene med alger viste størst følsomhet, med EC₅₀-verdier fra 0.30-0.84%. For å redusere veksthemmingen til mindre enn 10% må det mest giftige avløpsvannet fortynnes ca 800 ganger og det minst giftige ca. 200 ganger. Gifteffektene skyldes at prøvene er meget konsentrerte. Konsentrasjonen av organisk stoff ved EC₅₀-verdiene for alger var fra ca 200 til 600 mg/l. Dette viser at de organiske hovedkomponentene i avløpsvannene er lite toksiske.

Nedbrytningen av det organiske materialet i avløpsvannet skjer meget raskt og fjerningen av løst organisk karbon (DOC) var over 90% etter 28 døgn nedbrytbarhetstest i alle tre prøvene.

Summary

Title: Ecotoxicological characterisation of wastewater from Borregaard Synthesis

Year: 1997

Author: Torsten Källqvist

Source: Norwegian Institute for Water Research, ISBN No.: ISBN 82-577-3306-7

Three samples of wastewater from different processes at a chemical industry (Borregaard Synthesis, Sarpsborg, Norway) has been characterized with regard to toxicity to aquatic organisms and biological degradability. All samples had a very high content of organic compounds (DOC = 50-73 g/l). Of three test organisms (Algae, Daphnia and fish), the alga (*Selenastrum capricornutum*) was the most sensitive to the wastewaters, showing EC₅₀-values for effect on growth rate at 0.3-0.84 % wastewater concentration. The dilution required to reduce the growth inhibition to less than 10% was 800 times for the most toxic wastewater and 200 times for the least toxic sample. The toxic effects is a result of the highly concentrated wastewaters. The concentration of organic matter at the EC₅₀-values for algae was approximately 200-600 mg/l. This shows that the main organic components of the wastewaters had a low toxicity.

The biological degradation of the organic matter in the wastewater was very rapid, and more than 90% of the DOC was removed in a 28 days test for ready biodegradability.

1. BESKRIVELSE AV PRØVER

To prøver, merket hhv. "Ekstraksjon PROD 1271 Toxiprøve 1" og "Ekstraksjon PROD 1271 Toxiprøve 2" ble mottatt 25.04.97. En prøve merket "Destruert vannfase fra R 4700, Batch 1260-006-97" ble mottatt 29.07.97.

2. TESTPROGRAM

2.1 Toksisitetstester

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

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

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

Toksisitetstesten med ferskvannsalger ble utført i henhold til OECD Guideline 203 og ISO/DIS 8692 "Algal growth inhibition test", med *Selenastrum capricornutum* som testorganisme. En konsentrasjonsserie av prøven i et algevekstmedium ble podet med aktivt voksende testalger fra en stamkultur og inkubert under standard betingelser på et gyngebord med kontinuerlig belysning.

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

Giftighetstesten med vannlopper (*Daphnia magna*) ble gjort i henhold til OECD Guideline 202 og ISO 6341 "Determination of the inhibition of the mobility of *Daphnia magna*". Forsøksdyr som var mindre

enn 24 timer gamle ble eksponert i en fortyningsserie av avløpsvannet. Det ble benyttet fire enheter med 5-7 dyr for hver konsentrasjon.

Testen ble utført ved 20 °C. Etter 24 og 48 timer ble antall dyr som var døde, eller som ikke var i stand til å bevege seg registrert. EC₅₀ -verdien for immobilisering ble bestemt fra konsentrasjon/responsforløpet ved probit-analyse.

Giftighetstesten med fisk ble utført i overensstemmelse med OECD Guideline 201: "Fish acute toxicity test" og en norsk standard (NS 4717), med årsyngel av ørret som testorganisme. Dødeligheten av fisken ble undersøkt over 4 døgn i ulike konsentrasjoner av prøven. Fiskene ble overført til ny testløsning hvert døgn (semistatisk metode). LC₅₀ -verdien ble avlest fra konsentrasjon/responskurven.

2.2 Nedbrytbarhetstester

Ved nedbrytbarhetstester undersøkes den mikrobielle nedbrytningen av organiske forbindelser. Testene utføres i aerobt miljø, d.v.s. med oksygen tilstede og gir indikasjoner på om avløpsvannet inneholder stabile organiske forbindelser som ikke er lett nedbrytbare i biologiske renseanlegg eller i miljøet. En respirometrisk testmetode ble brukt ved nedbrytbarhetstestene (OECD 301 F, ISO/DIS 9408). Forbruket av oksygen ved aerob nedbrytning ble registrert fortløpende i 4 uker ved 20 °C. Dessuten ble reduksjonen av innholdet av organisk karbon beregnet ved analyser av DOC ved start og slutt.

Prøvene ble fortynt til ca. 50-75 mg løst organisk karbon (DOC) pr l, i destillert vann tilsatt uorganiske salter. Et inokulum av mikroorganismer fra aktivslam ble tilsatt. Prøvene ble inkubert i lukkede, mørke flasker tilkoblet manometre. Karbondioksid, produsert ved nedbrytningen ble absorbert i lut i en beholder inne i flasken. Oksygenforbruket ble registrert fortløpende på manometrene.

3. RESULTAT

3.1 Toksisitet

Testrapporterer samlet i vedlegg1-3. Resultatene av toksisitetstestene er sammenstilt i tabell 1.

I prøven "Toxiprøve 1" døde alle fiskene (7 st) innen 30 min. ved konsentrasjonen 5.6%. Etter 4 døgn var alle døde ved 1% konsentrasjon og 1 av 7 fisker var døde ved 1% konsentrasjon. LC₅₀-verdien ble beregnet til 1.3 %. Dafniene overlevde i 1.6 % konsentrasjon, men 16 av 20 var døde (immobiliserte) etter 2 døgn ved 2.5% konsentrasjon og samtlige var døde ved konsentrasjonen 4 %. EC₅₀-verdien for immobilisering av dafnier var 3.3 %. Veksthemming av algen *Selenastrum capricornutum* ble registrert allerede ved den laveste testkonsentrasjonen (0.56%). EC₅₀ -verdien for effekt på algenes veksthastighet var 0.84 %.

Prøven "Toxiprøve 2" var noe mer giftig for alle testorganismene. Fisken overlevde 4 døgn ved 0.32 % konsentrasjon, men alle døde ved 0.56 %. LC₅₀-verdien ble beregnet til 0.42 %. Daphniene var noe mindre følsomme. Det ble ikke observert immobilisering ved 1 % konsentrasjon men ved 2.5 % var samtlige dyr døde eller immobiliserte etter 2 døgn. EC₅₀-verdien var 1.5 %. På algene ble

det registrert veksthemming fra konsentrasjonen 0.32 % og hemmingen var fullstendig ved 3.2 %. EC₅₀-verdien var 0.68 %.

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

Prøve	Alger	Daphnia	Ørret
	EC ₅₀ (%)	48 h LC ₅₀ (%)	96 h LC ₅₀ (%)
Ekstraksjon PROD 1271, Toxiprøve 1	0.84	2.1	1.3
Ekstraksjon PROD 1271, Toxiprøve 2	0.68	1.5	0.42
Destruert vannfase fra R 4700	0.30	0.83	0.42

Destruert vannfase fra R 4700 var mest giftig av de tre vannprøvene. Samtlige fisker døde ved 0.56 % konsentrasjon, mens 1 av 7 overlevde ved 0.32% etter 4 døgn. LC₅₀-verdien ble beregnet til 0.42 %. Dafniene var noe mindre følsomme, med fullstendig immobilisering først ved 1.6 % konsentrasjon. EC₅₀-verdien etter 2 døgns eksponering var 0.83 %. For algene ble det observert signifikant vekstreduksjon allerede ved 0.1 % konsentrasjon. EC₅₀-verdien for effekt på algenes veksthastighet ble beregnet til 0.30 %.

3.2 Nedbrytbarhet

Resultater av nedbrytbarhetstestene er sammenfattet i tabell 2. Komplette testrapporter fins i vedlegg 4.

Alle prøvene hadde et meget høyt innhold av organisk stoff (50-73 g/l). I fortynnede prøver viste BOD-kurvene et meget raskt forløp og mesteparten av de organiske forbindelsene ble omsatt i løpet av 10 døgn. DOC-reduksjonen viser at nedbrytningen var i det nærmeste fullstendig etter 28 døgn.

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

Prøve	DOC g/l	DOC-red. %	BOD ₂₈ g/l	COD g/l	BOD/COD %
Ekstraksjon PROD 1271, Toxiprøve 1	73	98	173	197	88
Ekstraksjon PROD 1271, Toxiprøve 2	50	98	137	141	97
Destruert vannfase fra R 4700	67	94	195	231	84

4. KOMMENTARER

Den relativt høye toksisiteten på akvatiske organismer som ble registrert i alle tre prøvene må ses i lys av at de har et meget høyt innhold av organisk stoff. Beregning av DOC-konsentrasjonen ved EC₅₀ for den mest følsomme testorganismen (alger) viser at de organiske hovedkomponentene i prøvene er lite giftige. I den mest toksiske prøven var DOC-konsentrasjonen 201 mg/l ved den konsentrasjon som ga 50% veksthemming (se tabell 3). Dersom man regner med se organiske forbindelsene inneholder ca. 50% karbon tilsvarer altså EC₅₀ en stoffkonsentrasjon av ca. 400 mg/l. Til sammenligning kan nevnes at grensen for miljøfarlighetsklassifisering av kjemikalier er EC₅₀ <100 mg/l. For stoffer som er lett nedbrytbare og ikke bioakkumuleres må EC₅₀ eller LC₅₀-verdien være <1 mg/l for at de skal klassifiseres som miljøfarlige (R50).

I følge OECD Guidelines regnes stoffer som lett nedbrytbare dersom BOD₂₈/COD >60% eller DOC-reduksjonen er >70%. Begge disse kriteriene er overskredet med god margin for alle tre prøvene og de organiske forbindelsene kan derfor karakteriseres som lett nedbrytbare. Det raske nedbrytningsforløpet tyder på at avløpene er godt egnet for biologisk rensing dersom de fortynnes i andre avløpsstrømmer.

Tabell 3. Beregnet konsentrasjon av løst organisk karbon (DOC) ved de konsentrasjoner som ga 50% veksthemming av alger (EC₅₀).

Prøve	EC ₅₀ alger (%)	DOC ved EC ₅₀ (mg/l)
Ekstraksjon PROD 1271, Toxiprøve 1	0.84	613
Ekstraksjon PROD 1271, Toxiprøve 2	0.68	340
Destruert vannfase fra R 4700	0.30	201

VEDLEGG 1

Toksisitetstester med alger

Norsk
Institutt
for
Vannforskning

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

TEST RAPPORT



Alger, veksthemmingstest *Selenastrum capricornutum* NIVA metode K4

Teststoff: Ekstraksjon PROD 1271, Toksiprøve 1 **Lab. kode:** B273/1
Kunde: Borregaard Synthesis **Prøve mottatt:** 25.04.97
Adresse: Postboks 162, 1701 Sarpsborg

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: 28.04.97
Forbehandling av prøve: Filtrert, Wathman GF/C
Konsentrasjoner: 0.56, 1.0, 1.8, 3.2, 5.6, 10%
Test medium: ISO DIS 8692
Inkuberingsutstyr: Gyngebord
Dyrkingsflasker: 100 ml stålcolber med 50 ml medium
Lys: ca. 75 $\mu\text{E m}^2 \text{s}^{-1}$, kontinuerlig fra dagslys-type lysstoffrør
Temperatur: 20.3 - 20.7°C
pH i kontroll: Start : 7.6 Slutt: 7.8
pH i høyeste konsentrasjon: Start : 7.6 Slutt: 8.2
Vekstmåling: Partikkel telling med 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 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	%	0.84	0.77 - 0.93	0.47	0.40 - 0.55	<0.56

Testen utført av: Torsten Källqvist

Testansvarlig:


Torsten Källqvist

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

** NOEC = Høyeste testede konsentrasjon uten signifikant effekt

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

Norsk institutt for vannforskning

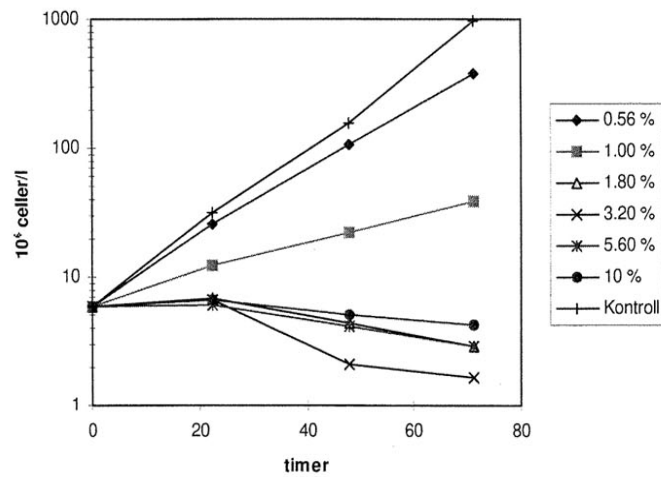


Fig. 1. Vekstkurver for *Selenastrum capricornutum* i ulike konsentrasjoner av Toksiprøve 1.

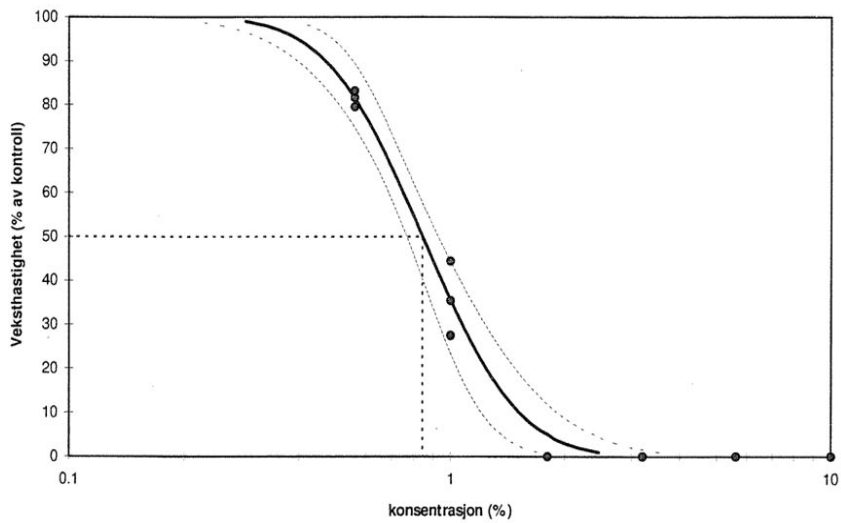


Fig. 2. Effekt av Toksiprøve 1 på veksthastigheten til *Selenastrum capricornutum*.

Referanser:

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

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

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

NIVA

3/3

TEST: K4
 TESTSTOFF: Toksiprøve 1
 TEST ALGE: *Selenastrum capricornutum*
 INOKULUM : 5.9 mill. celler/l

Dato: 28.4.97
 Lab. kode: B273/1
 Medium: ISO

		Dag 1	Dag 2	Dag 3	Areal	Areal %	V. hast.	V. hast %
	Timer:	22.5	48	71				
Kons.	enhet	mill/l	mill/l	mill/l				
0.56	mg/l	27	117	381	7514	49	1.41	82
0.56	"	27	111	413	7737	50	1.44	83
0.56	"	23	89	343	6302	41	1.37	80
1	"	12	24	24	793	5	0.47	27
1	"	13	18	36	810	5	0.61	35
1	"	12	25	57	1197	8	0.77	44
1.8	"	7.2	5.7	3.9	3	0	-0.14	-8
1.8	"	6.9	4.2	2.8	-53	0	-0.25	-15
1.8	"	6.5	3.2	2.1	-95	-1	-0.35	-20
3.2	"	6	2.3	1.5	-136	-1	-0.46	-27
3.2	"	7.5	2.1	1.1	-109	-1	-0.57	-33
3.2	"	6.2	1.9	2.3	-131	-1	-0.32	-18
5.6	"	6.3	3.4	3	-84	-1	-0.23	-13
5.6	"	6	4.1	3	-75	0	-0.23	-13
5.6	"	6.1	4.8	2.8	-58	0	-0.25	-15
10	"	6.7	5.1	4	-22	0	-0.13	-8
10	"	6.2	4.6	4.2	-44	0	-0.11	-7
10	"	6.8	5.4	4.4	-8	0	-0.10	-6
Kontroll								
		32	128	1009	15123	98	1.74	101
		30	134	854	13438	87	1.68	97
		30	148	889	14180	92	1.70	98
		32	164	1043	16387	106	1.75	101
		32	163	1092	16926	110	1.76	102
		34	184	1002	16448	107	1.74	100

MEAN VALUES

Kons.								
0.56 Mv:		25.67	105.67	379.00	7184	46.60	1.41	81.40
St. d.		1.89	12.04	28.61	630	4.09	0.03	1.49
1.00 Mv.		12.33	22.33	39.00	934	6.06	0.62	35.74
St. d.		0.47	3.09	13.64	187	1.21	0.12	6.91
1.80 Mv.		6.87	4.37	2.93	-48	-0.31	-0.25	-14.30
St. d.		0.29	1.03	0.74	40	0.26	0.09	4.95
3.20 Mv.		6.57	2.10	1.63	-125	-0.81	-0.45	-26.03
St. d.		0.66	0.16	0.50	12	0.08	0.10	5.92
5.60 Mv.		6.13	4.10	2.93	-72	-0.47	-0.24	-13.68
St. d.		0.12	0.57	0.09	11	0.07	0.01	0.64
10.00 Mv.		6.57	5.03	4.20	-25	-0.16	-0.12	-6.67
St. d.		0.26	0.33	0.16	15	0.10	0.01	0.76
0.00 Mv.								
St. d.								
Kontroll Mv.		31.67	153.50	981.50	15417	100.00	1.73	100.00
St. d.		1.37	19.11	83.65	1279	8.30	0.03	1.70
Variasjonskoeffisient i kontroller (%):					8.3		1.7	

B273_1.XLS

Norsk
 Institutt
 for
 Vannforskning

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

TEST RAPPORT



Alger, veksthemmingstest *Selenastrum capricornutum* NIVA metode K4

Teststoff: Ekstraksjon PROD 1271, Toksiprove 2 **Lab. kode:** B273/2
Kunde: Borregaard Synthesis **Prøve mottatt:** 25.04.97
Adresse: Postboks 162, 1701 Sarpsborg

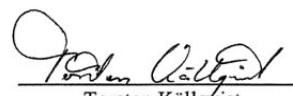
Testmetode: ISO 8692, OECD 201: Alga growth inhibition test
Organisme: *Selenastrum capricornutum* NIVA CHL1
Testparameter: Veksthastighet fra start til 72 timer
Stamkultur: Semi-kontinuerlig i 10% Z8 vekstmedium (Staub 1961)
Start dato: 28.04.97
Forbehandling av prøve: Filtrert, Wathman GF/C
Konsentrasjoner: 0.32, 0.56, 1.0, 1.8, 3.2, 5.6, 10%
Test medium: ISO DIS 8692
Inkuberingsutstyr: Gyngebord
Dyrkingsflasker: 100 ml ståkolber med 50 ml medium
Lys: ca. 75 $\mu\text{E m}^2 \text{s}^{-1}$, kontinuerlig fra dagslys-type lysstoffrør
Temperatur: 20.3 - 20.7°C
pH i kontroll: Start : 7.6 Slutt: 7.8
pH i høyeste konsentrasjon: Start : 7.4 Slutt: 5.8
Vekstmåling: Partikkel telling med 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 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.

Effektparameter	Enhet	EC ₅₀	95% konf. int.	EC ₁₀	95% konf. int.	NOEC
Veksthastighet	%	0.68	0.55 - 0.85	0.30	0.21 - 0.44	<0.32

Testen utført av: Torsten Källqvist

Testansvarlig:


 Torsten Källqvist

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

** NOEC = Høyeste testede konsentrasjon uten signifikant effekt

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

Norsk institutt for vannforskning

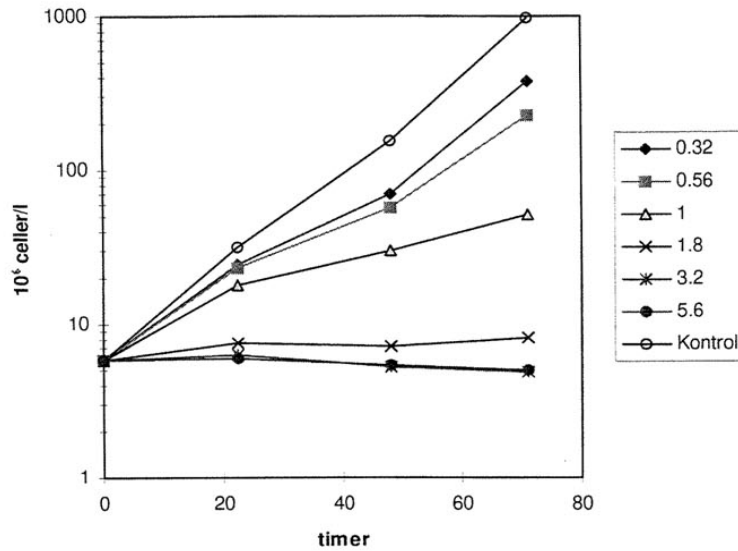


Fig. 1. Vekstkurver for *Selenastrum capricornutum* i ulike konsentrasjoner av Toksiprøve 2.

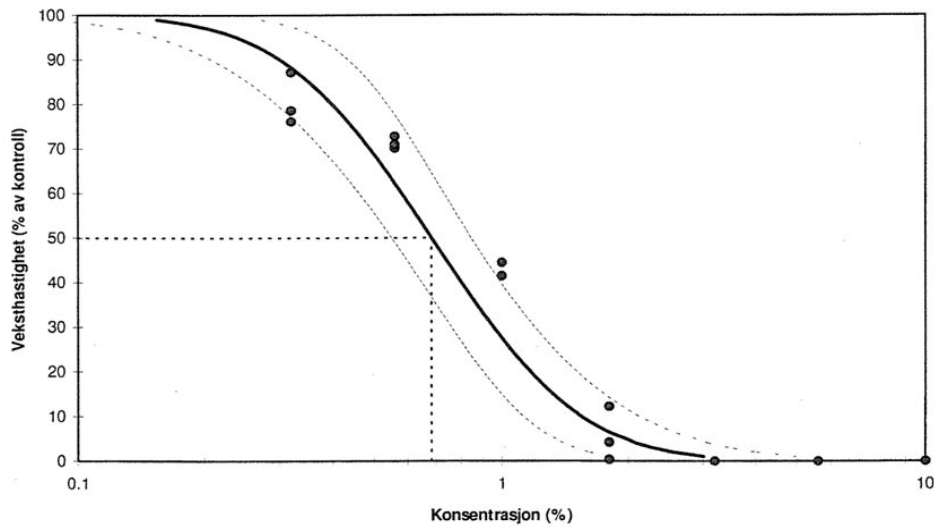


Fig. 2. Effekt av Toksiprøve 2 på veksthastigheten til *Selenastrum capricornutum*.

Referanser:

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

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

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

NIVA

3/3

TEST: K4
 TESTSTOFF: Toksiprøve 2
 TEST ALGE: *Selenastrum capricornutum*
 INOKULUM : 5.9 mill. celler/l

Dato: 28.4.97
 Lab. kode: B273/2
 Medium: ISO

Kons.	Timer: enhet	Dag 1	Dag 2	Dag 3	Areal	Areal %	V. hast.	V. hast %
		22.5 mill/l	48 mill/l	71 mill./l				
0.32	mg/l	23	80	507	7970	52	1.51	87
0.32	"	23	59	288	4942	32	1.31	76
0.32	"	27	70	327	5753	37	1.36	79
0.56	"	25	59	243	4473	29	1.26	73
0.56	"	21	55	212	3923	25	1.21	70
0.56	"	23	57	221	4123	27	1.22	71
1	"	17	29	49	1322	9	0.72	41
1	"	18	32	57	1511	10	0.77	44
1	"	19	29	49	1370	9	0.72	41
1.8	"	8.2	8.8	11	184	1	0.21	12
1.8	"	7	6.2	6	35	0	0.01	0
1.8	"	7.5	6.6	7.3	71	0	0.07	4
3.2	"	6.3	5.5	5.2	-8	0	-0.04	-2
3.2	"	6.7	5.2	4.4	-15	0	-0.10	-6
3.2	"	5.9	5.1	5.2	-27	0	-0.04	-2
5.6	"	6.1	5.2	5.1	-21	0	-0.05	-3
5.6	"	5.8	5.6	5.4	-15	0	-0.03	-2
5.6	"	6.3	5.6	4.5	-14	0	-0.09	-5
10	"	6.6	5.5	5.4	1	0	-0.03	-2
10	"	7	6.1	5.2	23	0	-0.04	-2
10	"	5.7	6.3	5.7	3	0	-0.01	-1
Kontroll		32	128	1009	15123	98	1.74	101
		30	134	854	13438	87	1.68	97
		30	148	889	14180	92	1.70	98
		32	164	1043	16387	106	1.75	101
		32	163	1092	16926	110	1.76	102
		34	184	1002	16448	107	1.74	100

MEAN VALUES

Kons.		Dag 1	Dag 2	Dag 3	Areal	Areal %	V. hast.	V. hast %
0.32 Mv.		24.33	69.67	374.00	6222	40.36	1.39	80.60
St. d.		1.89	8.58	95.38	1280	8.30	0.08	4.74
0.56 Mv.		23.00	57.00	225.33	4173	27.07	1.23	71.25
St. d.		1.63	1.63	13.02	227	1.47	0.02	1.12
1.00 Mv.		18.00	30.00	51.67	1401	9.09	0.73	42.41
St. d.		0.82	1.41	3.77	80	0.52	0.02	1.40
1.80 Mv.		7.57	7.20	8.10	97	0.63	0.10	5.56
St. d.		0.49	1.14	2.12	64	0.41	0.09	4.94
3.20 Mv.		6.30	5.27	4.93	-17	-0.11	-0.06	-3.56
St. d.		0.33	0.17	0.38	8	0.05	0.03	1.54
5.60 Mv.		6.07	5.47	5.00	-17	-0.11	-0.06	-3.29
St. d.		0.21	0.19	0.37	3	0.02	0.03	1.49
10.00 Mv.		6.43	5.97	5.43	9	0.06	-0.03	-1.63
St. d.		0.54	0.34	0.21	10	0.06	0.01	0.74
Kontroll Mv.		31.67	153.50	981.50	15417	100.00	1.73	100.00
St. d.		1.37	19.11	83.65	1279	8.30	0.03	1.70
Variasjonskoeffisient i kontroller (%):					8.3		1.7	

B273_2.XLS

Norsk
Institutt
for
Vannforskning

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

TEST RAPPORT



Alger, veksthemmingstest *Selenastrum capricornutum* NIVA metode K4

Teststoff: Destruert vannfase fra R4700, Batch 1260-006-97 **Lab. kode:** B283/1
Kunde: Borregaard Synthesis Prøve mottatt 29.07.97
Adresse: Postboks 162, 1701 Sarpsborg

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: 25/08/97
Forbehandling av prøve: Prøven oppbevart ved -20 °C. Filtrert gjennom glassfiberfilter GF/C. pH-justert til 7.6-7.7 etter fortykning i testmedium
Konsentrasjoner: 0.10, 0.18, 0.32, 0.56, 1.0, 1.8, 3.2 %
Test medium: ISO DIS 8692
Inkuberingsutstyr: Gyngebord
Dyrkingsflasker: 100 ml ståkolber med 50 ml medium
Lys: ca. 75 $\mu\text{E m}^2 \text{s}^{-1}$, kontinuerlig fra dagslys-type lysstoffrør
Temperatur: 20.4-21.0 °C
pH i kontroll Start : 7.7 Slutt: 8.5
pH i høyeste konsentrasjon Start : 7.6 Slutt: 8.5
Vekstmåling: Partikkeltelling med 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 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	%	0.30	0.27 - 0.34	0.12	0.11 - 0.14	<0.1

Testen utført av: Torsten Källqvist

Testansvarlig:


Torsten Källqvist

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

** NOEC = Høyeste testede konsentrasjon uten signifikant effekt

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

Norsk institutt for vannforskning

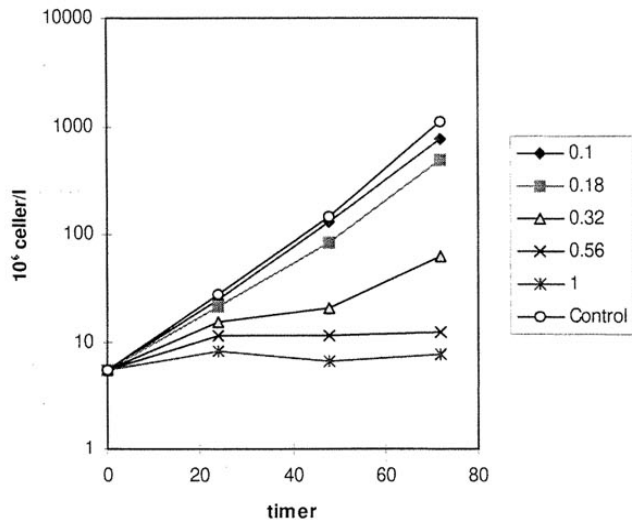


Fig. 1. Vekstkurver for *Selenastrum capricornutum* i ulike konsentrasjoner av destruert vannfase fra R4700.

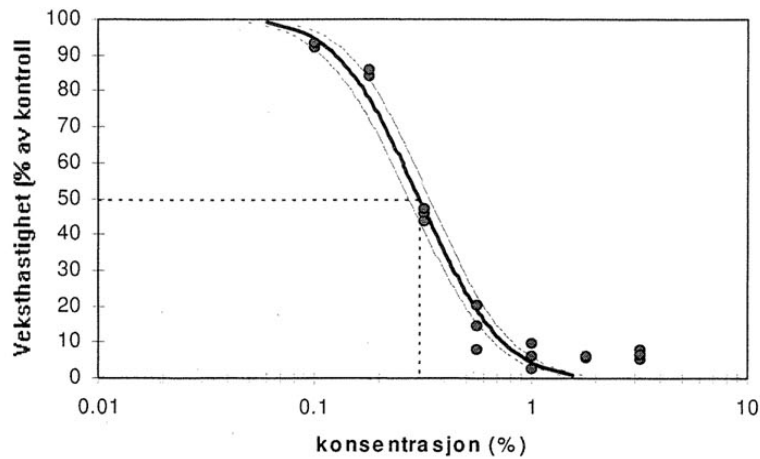


Fig. 2. Effekt av destruert vannfase fra R4700 på veksthastigheten til *Selenastrum capricornutum*.

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.

NIVA

3/3

TEST: K4

Date: 25.08.97

COMPOUND: Destruert vannfase fra R 4700

Lab. code: B283/1

TEST ALGA: *Selenastrum capricornutum*

Medium: ISO

INOCULUM: 5.5 mill. cells/l

Conc.	Hours: %	Day 1	Day 2	Day 3	Area	Area %	G. rate	G. rate %
		24 mill/l	48 mill/l	72 mill/l				
0.1	"	23.0	129	754	12366	72	1.64	93
0.1	"	24.0	134	730	12222	72	1.63	92
0.1	"	28.0	130	786	12894	75	1.65	94
0.18	"	27.0	91	481	8274	48	1.49	84
0.18	"	18.0	79	477	7722	45	1.49	84
0.18	"	19.0	76	518	8166	48	1.52	86
0.32	"	17.0	21	62	1326	8	0.81	46
0.32	"	15.0	21	56	1206	7	0.77	44
0.32	"	14.0	20	67	1290	8	0.83	47
0.56	"	11.0	12	12	366	2	0.26	15
0.56	"	13.0	13	16	486	3	0.36	20
0.56	"	10.0	10	8	241	1	0.14	8
1	"	8.1	6.6	9	132	1	0.17	9
1	"	8.1	6.2	7.6	104	1	0.11	6
1	"	8.1	6.7	6	101	1	0.05	3
1.8	"	8.1	7.1	7.5	125	1	0.10	6
1.8	"	8.2	6.9	7.5	122	1	0.10	6
1.8	"	8.9	6.8	7.7	139	1	0.11	6
3.2	"	8.2	7.1	7.2	124	1	0.09	5
3.2	"	7	6.4	8.3	91	1	0.14	8
3.2	"	8.1	7.1	7.9	130	1	0.12	7
Control		29.0	150	1021	16218	95	1.74	98
		26.0	127	1044	15870	93	1.75	99
		26.0	157	1229	18810	110	1.80	102
		28.0	143	1156	17646	103	1.78	101
		28.0	146	1138	17502	102	1.78	101
		27.0	141	1067	16506	97	1.76	99

MEAN VALUES

		%						
0.10 Mv.		25.00	131.00	756.67	12494	73.10	1.64	92.82
St. d.		2.16	2.16	22.94	289	1.69	0.01	0.57
0.18 Mv.		21.33	82.00	492.00	8054	47.12	1.50	84.70
St. d.		4.03	6.48	18.46	239	1.40	0.01	0.70
0.32 Mv.		15.33	20.67	61.67	1274	7.45	0.80	45.51
St. d.		1.25	0.47	4.50	50	0.29	0.02	1.38
0.56 Mv.		11.33	11.53	12.13	364	2.13	0.25	14.27
St. d.		1.25	1.43	3.10	100	0.58	0.09	4.97
1.00 Mv.		8.10	6.50	7.67	112	0.66	0.11	6.05
St. d.		0.00	0.22	1.14	14	0.08	0.05	2.83
1.80 Mv.		8.40	6.93	7.57	129	0.75	0.11	6.01
St. d.		0.36	0.12	0.09	7	0.04	0.00	0.23
3.20 Mv.		7.77	6.87	7.80	115	0.67	0.12	6.55
St. d.		0.54	0.33	0.45	17	0.10	0.02	1.11
Control Mv.		27.33	144.00	1109.17	17092	100.00	1.77	100.00
St. d.		1.11	9.20	72.09	1002	5.86	0.02	1.21
Coefficient of variation in controls (%):					5.86		1.21	

VEDLEGG 2

Toksisitetstester med dafnier

TEST RAPPORT

Norsk
Institutt
for
Vannforskning

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

Akutt toksisitet
Daphnia magna
NIVA metode K9



Teststoff: Ekstraksjon PROD 1271 Toksiprøve 1 **Lab. kode:** B273/1
Kunde: Borregaard Synthesis **Prøve mottatt:** 25.04.97
Adresse: Postboks 162,
1701 Sarpsborg

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 A. Vedlikeholdt i Elendt M7 og foret med *Selenastrum capricornutum* som er dyrket i 10% Z8 nærings saltløsning. Alder ved teststart < 24 timer.
Testperiode 28.04 - 30.04.97
Forbehandling av prøve ingen
Fortynningsmedium ISO
Testkonsentrasjoner 1.0, 1.6, 2.5, 4.0, 6.3 %
Antall enheter 4 kar for hver konsentrasjon, med 5-7 dyr pr. kar.
Testbeholdere 50 mL polystyren begere med ca. 40 mL medium
Temperatur 19.5 - 19.8°C
pH i kontroll Start: 7.8 Slutt: 7.7
pH i høyeste kons. Start: 7.7 Slutt: 7.9
Oksygenmetning, 48 t Kontroll: 8.39 ppm 6.3 % kons.: 7.23 ppm
Beregning av EC₅₀ Probit-analyse (SNV-probit)

Referansestoff: Kaliumdikromat: 24t EC₅₀= 1.37 mg/l

Resultater:

Parameter	Enhet	24 timer			48 timer		
		EC ₅₀	95% konf. int.	EC ₁₀	EC ₅₀	95% konf. int.	EC ₁₀
Immobilisering	%	3.3	3.01-3.66	2.7	2.1	-	1.7

Kommentarer:

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

Norsk institutt for vannforskning

Konsentrasjon	Antall dyr	Immobiliserte 24 tim.	Immobiliserte 48 tim.
1 %	21	0	0
1.6 %	20	0	0
2.5 %	20	1	16
4.0 %	20	18	20
6.3 %	20	20	20
Kontroll	20	0	0

Observerte immobiliserte *Daphnia magna* etter 24 og 48 timer i kontroller og ulike konsentrasjoner av prøve 1.

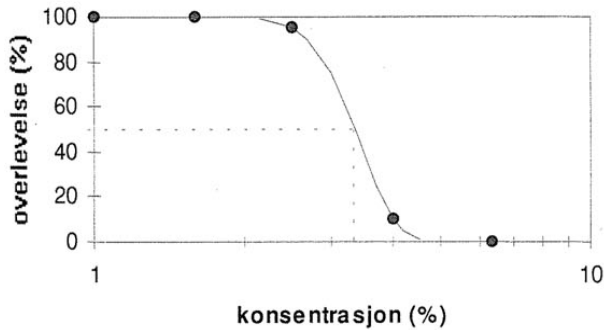


Fig. 1. Effekt av prøve 1 på overlevelse av *Daphnia magna* etter 24 timer.

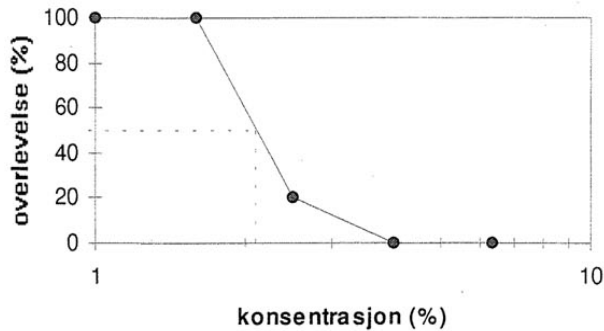


Fig. 2. Effekt av prøve 1 på overlevelse av *Daphnia magna* etter 48 timer.

Utført av: Randi Romstad

Testansvarlig:


Torsten Kallqvist

Dato: 31.8.97

Baird, D. J. et al, 1991, *A Comparative Study of Genotype Sensitivity to Acute Toxic Stress Using Clones of Daphnia magna* Strauss, *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 21, 257 - 265.

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

Elenet, B.-P. 1990, *Selenium deficiency in Crustacea; An ultrastructural approach to antennal damage in Daphnia magna* Strauss. *Protoplasma*, 154, 25-33.

TEST RAPPORT

Norsk
 Institutt
 for
 Vannforskning

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

Akutt toksisitet
Daphnia magna
 NIVA metode K9



Teststoff: Ekstraksjon PROD 1271 Toksiprøve 2 **Lab. kode:** B273/2
Kunde: Borregaard Synthesis **Prøve mottatt:** 25.04.97
Adresse: Postboks 162,
 1701 Sarpsborg

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 A. Vedlikeholdt i Elendt M7 og foret med *Selenastrum capricornutum* som er dyrket i 10% Z8 nærings saltløsning. Alder ved teststart < 24 timer.
Testperiode 28.04 - 30.04.97
Forbehandling av prøve ingen
Fortynningsmedium ISO
Testkonsentrasjoner 0.4, 0.63, 1.0, 1.6, 2.5 %
Antall enheter 4 kar for hver konsentrasjon, med 5-7 dyr pr. kar.
Testbeholdere 50 mL polystyren begere med ca. 40 mL medium
Temperatur 19.5 - 19.8°C
pH i kontroll Start: 7.8 Slutt: 7.7
pH i høyeste kons. Start: 7.8 Slutt: 7.5
Oksygenmetning, 48 t Kontroll: 8.39 ppm 2.5 % kons.: 8.00 ppm
Beregning av EC₅₀ Probit-analyse (SNV-probit)

Referansestoff: Kaliumdikromat: 24t EC₅₀ = 1.37 mg/l

Resultater:

Parameter	Enhet	24 timer			48 timer		
		EC ₅₀	95% konf. int.	EC ₁₀	EC ₅₀	95% konf. int.	EC ₁₀
Immobilisering	%	1.9	-	1.3	1.5	1.38 - 1.76	1.1

Kommentarer:

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

Norsk institutt for vannforskning

Konsentrasjon	Antall dyr	Immobiliserte 24 tim.	Immobiliserte 48 tim.
0.4 %	18	0	0
0.63 %	20	1	1
1.0 %	20	0	0
1.6 %	21	3	12
2.5 %	20	20	20
Kontroll	20	0	0

Observerte immobiliserte *Daphnia magna* etter 24 og 48 timer i kontroller og ulike konsentrasjoner av prøve 2.

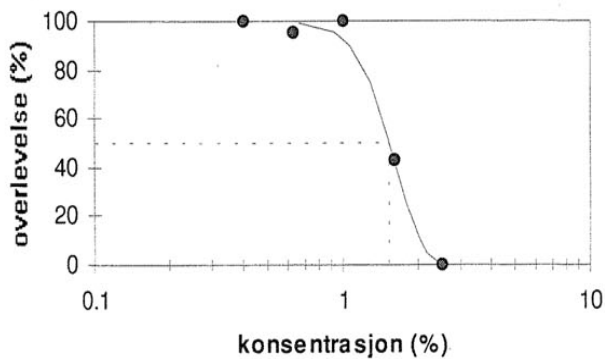


Fig. 1. Effekt av prøve 2 på overlevelse av *Daphnia magna* etter 48 timer.

Utført av: Randi Romstad

Testansvarlig:

Torsten Källevist
Torsten Källevist

Dato: 31. 8. 97

Baird, D. J. et al, 1991, *A Comparative Study of Genotype Sensitivity to Acute Toxic Stress Using Clones of Daphnia magna Strauss*, *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 21, 257 - 265.

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

Elendt, B.-P. 1990, *Selenium deficiency in Crustacea; An ultrastructural approach to antennal damage in Daphnia magna Strauss*. *Protoplasma*, 154, 25-33.

TEST RAPPORT

Norsk
Institutt
for
Vannforskning

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

Akutt toksisitet
Daphnia magna
NIVA metode K9



Teststoff: Destruert vannfase fra R4700
Kunde: Borregaard Synthesis
Adresse: Postboks 162,
1701 Sarpsborg

Lab. kode: B283/1
Prøve mottatt: 29.07.97

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 A. Vedlikeholdt i Elendt M7 og foret med *Selenastrum capricornutum* som er dyrket i 10% Z8 næringssaltløsning. Alder ved teststart < 24 timer.

Testperiode 19.08 - 21.08.97

Forbehandling av prøve ingen

Fortynningsmedium ISO

Testkonsentrasjoner 0.25, 0.4, 0.63, 1.0, 1.6, 2.5 %

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

Testbeholdere 50 mL polystyren begere med ca. 40 mL medium

Temperatur 19.5 - 19.9°C

pH i kontroll Start: 7.8 Slutt: 7.8

pH i høyeste kons. Start: 7.7 Slutt: 8.0

Oksygenmetning, 48 t Kontroll: 7.93 ppm 2.5 % kons.: 7.16 ppm

Beregning av EC₅₀ Probit-analyse (SNV-probit)

Referankestoff: Kaliumdikromat: 24t EC₅₀= 1.34 mg/l

Resultater:

Parameter	Enhet	24 timer			48 timer		
		EC ₅₀	95% konf. int.	EC ₁₀	EC ₅₀	95% konf. int.	EC ₁₀
Immobilisering	%	1.7	1.33 - 2.45	1.1	0.83	0.74 - 0.95	0.53

Kommentarer:

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

Norsk institutt for vannforskning

Konsentrasjon	Antall dyr	Immobiliserte 24 tim.	Immobiliserte 48 tim.
0.25 %	20	0	0
0.4 %	21	1	1
0.63 %	20	0	4
1.0 %	20	0	15
1.6 %	20	8	20
2.5 %	20	19	20
Kontroll	20	0	0

Observerte immobiliserte *Daphnia magna* etter 24 og 48 timer i kontroller og ulike konsentrasjoner av prøve B283/1.

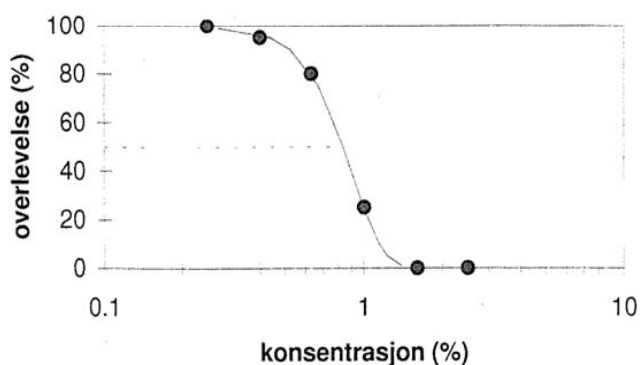



Fig. 1. Effekt av prøve B283/1 på overlevelse av *Daphnia magna* etter 48 timer.

Utført av: Randi Romstad

Testansvarlig:


Torsten Kälvqvist

Dato: 30.8.97

Baird, D. J. et al, 1991, *A Comparative Study of Genotype Sensitivity to Acute Toxic Stress Using Clones of Daphnia magna* Strauss, *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 21, 257 - 265.

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

Elendt, B.-P. 1990, *Selenium deficiency in Crustacea; An ultrastructural approach to antennal damage in Daphnia magna* Strauss. *Protoplasma*, 154, 25-33.

VEDLEGG 3

Toksisitetstester med fisk

Norsk
Institutt
for
Vannforskning

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

TEST RAPPORT

Akutt toksisitet - fisk

Salmo trutta

NIVA metode K15



Teststoff: Ekstraksjon PROD 1271, Toksprøve 1
Kunde: Borregaard Synthesis
Postboks 162, 1701 Sarpsborg

Lab. kode: B273/1
Motatt: 25.04.97

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 produkter og avløpsvanns akutte toksisitet for ferskvannsfisk - semistatisk metode". Forholdet fiskevekt/vannvolum var (0.78 g/l) i overensstemmelse med fiskebelastning på <1.0 g/l anbefalt i OECD 203.

Testorganisme

Årsyngel (0+) av ørret (*Salmo trutta*), med middelvekt 2.8 g og middellengde 6.7 cm. Fisken var hentet fra OFAs oppdrettsanlegg i Sørkedalen 3 uker før testoppstart. Fisk ble ikke foret innen 1 døgn før teststart.

Test detaljer

Test organisme: Bekkeørret (*Salmo trutta*)
Test parameter: Mortalitet observert hver dag i 4 dager.
Opprinnelse av fisk: Oslo Fiskeadministrasjon Oppdrettsanlegg i Sørkedalen
Inntak av fisk: Fisk ankom NIVA 29 April 1997
Dato for oppstart: 2 juni 1997
Test konsentrasjoner: 0.32, 0.56, 1.0, 1.8, 3.2 og 5.6 % løsning av test avløpsvannet
Tillagning av løsninger: Avløpsvannet ble målt opp i målesylinder og fortynt i målekolbe
Test Medium: Fortynningsvann fra Maridalsvannet.
Test system: 36 l Glass akvarier fylt med 25 l testløsning
Beregning av LC50: Kumulativ prosent mortalitet er plottet mot logaritmen til konsentrasjonen. LC50 er grafisk bestemt.
NOEC: Høyeste konsentrasjon uten observerte toksiske effekter.

Test betingelser

Lys: 16 timer lys 8 timer mørke
Temperatur: Målt daglig i kontroll akvariet. Maksimum temperatur var 12.4 °C og minimum var 11.7 °C.
pH: Målt før og etter vannskift hver dag. Kontroll start 6.6, slutt 6.3, Høyeste konsentrasjon start 7.3 slutt 7.3
Oksygen: Daglig måling før vannskift. Laveste måling 66 % oksygen metning høyeste måling 82 % oksygen metning.

Utførelse

Forsøket ble utført i glassakvarier med 25 l vann og 7 fisk i hver konsentrasjon av avløpsvann. Konsentrasjoner testet var 0.32, 0.56, 1.0, 1.8, 3.2 og 5.6 % avløpsvann "Ekstraksjon PROD 1271, prøve nr 1". Avløpsvannet hadde en brunlig farge med utpreget lukt av løsningsvesker. Ufortynnet avløpsvann hadde pH 7.7. Avløpsvannet ble målt opp i målesylinder og fortynnet i målekolber med Maridalsvann til ønsket konsentrasjon. Testfiskene ble overført til ny løsning hvert døgn (semistatisk metode) og forsøket pågikk i 4 døgn. Konsentrasjonen av løst oksygen ved vannskift var 66-82 % av metningskonsentrasjonen. Fisken ble observert hvert døgn med hensyn til toksiske symptomer 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. Temperaturen under forsøkene var 11.7-12.4 °C.

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

pH		ca. 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. Ved 5.6 % døde alle innen 30 min. Som det fremgår av tabellen var det kun en liten økning i mortalitet med tiden. Det ble også observert endel toksiske symptomer på overlevende fisk, disse observasjoner er gjengitt i tabell 3. NOEC er basert på høyeste konsentrasjon uten observerbare toksiske effekter.

$$96\text{h LC50} = 1.3 \% \quad 96\text{h NOEC} = 0.32 \%$$

Tabell 2. Kumulativt antall døde fisk (% i parentes) ved forskjellig eksponeringstid og konsentrasjon. LC50 og NOEC ved ulike tidspunkt er angitt nederst i tabellen.

Konsentrasjon %	Timer			
	24	48	72	96
0	0	0	0	0
0.32	0	0	0	0
0.56	0	0	0	0
1.0	0	0	0	1 (14 %)
1.8	5 (71 %)	7 (100%)	7 (100%)	7 (100%)
3.2	7 (100%)	7 (100%)	7 (100%)	7 (100%)
5.6	7 (100 %)	7 (100 %)	7 (100 %)	7 (100 %)
LC50	1.5 %	1.3 %	1.3 %	1.3 %
NOEC	0.56 %	0.32 %	0.32 %	0.32 %

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

Norsk institutt for vannforskning

Tabell 3. Observerte symptomer hos fisk eksponert for avløpsvann "Ekstraksjon PROD 1271, prøve nr 1", når antall fisk er mindre enn 7 i sum er de andre fiskene enten døde eller uten symptomer.


Tid	24 h	24 h	48 h	48 h	72 h	72 h	96 h	96 h
Konsentrasjon	1.0	1.8	0.56	1.0	0.56	1.0	0.56	1.0
Symptomer								
Sideleie svømming		1	1	1	1	6	5	
Oppned svømming	1	1				1		
Kun svak pusting								6

Tabell 4. Sammendrag av resultater for toksisitetstest med "Ekstraksjon PROD 1271, prøve nr 1" på fisk (*Salmo trutta*).

	Observasjons tidspunkt			
	24 timer	48 timer	72 timer	96 timer
LC50 (%)	1.5	1.3	1.3	1.3
NOEC (%)	0.56	0.32	0.32	0.32
100 % Dødelighet (%)	3.2	1.8	1.8	1.8

Testen utført av: August Tobiesen

Testansvarlig:


August Tobiesen

Norsk
Institutt
for
Vannforskning

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

TEST RAPPORT

Akutt toksisitet - fisk
Salmo trutta
NIVA metode K15



Teststoff:	Ekstraksjon PROD 1271, Toksprøve 2	Lab. kode:	B273/2
Kunde:	Borregaard Synthesis Postboks 162, 1701 Sarpsborg	Motatt:	25.04.97

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 fiskevekt/vannvolum var (0.78 g/l) i overensstemmelse med fiskebelastning på <1.0 g/l anbefalt i OECD 203.

Testorganisme

Årsyngel (0+) av ørret (*Salmo trutta*), med middelvekt 2.8 g og middellengde 6.7 cm. Fisken var hentet fra OFAs oppdrettsanlegg i Sørkedalen 3 uker før testoppstart. Fisk ble ikke foret innen 1 døgn før teststart.

Test detaljer

Test organisme:	Bekkeørret (<i>Salmo trutta</i>)
Test parameter:	Mortalitet observert hver dag i 4 dager.
Opprinnelse av fisk:	Oslo Fiskeadministrasjon Oppdrettsanlegg i Sørkedalen
Inntak av fisk:	Fisk ankom NIVA 29 April 1997
Dato for oppstart:	2 juni 1997
Test konsentrasjoner:	0.32, 0.56, 1.0, 1.8, 3.2 og 5.6 % løsning av test avløpsvannet
Tillagning av løsninger:	Test avløpsvannet ble målt opp i målesylinder og fortynnet i målekolbe
Test Medium:	Fortynningsvann fra Maridalsvannet.
Test system:	36 l Glass akvarier fylt med 25 l testløsning
Beregning av LC50	Kumulativ prosent mortalitet er plottet mot logaritmen til konsentrasjonen. LC50 er grafisk bestemt.
NOEC	Høyeste konsentrasjon uten observerte toksiske effekter.

Test betingelser

Lys:	16 timer lys 8 timer mørke
Temperatur:	Målt daglig i kontroll akvariet. Maksimum temperatur var 12.4 °C og minimum var 11.7 °C.
pH:	Målt før og etter vannskift hver dag. Kontroll start 6.6, slutt 6.3, Høyeste konsentrasjon start 5.3 slutt 5.3
Oksygen:	Daglig måling før vannskift. Laveste måling 67 % oksygen metning høyeste måling 89 % oksygen metning.

Utførelse

Forsøket ble utført i glassakvarier med 25 l vann og 7 fisk i hver konsentrasjon av avløpsvann. Konsentrasjoner testet var 0.32, 0.56, 1.0, 1.8, 3.2 og 5.6 % avløpsvann "Ekstraksjon PROD 1271, prøve nr2". Avløpsvannet hadde en nesten klar farge med utpreget lukt av løsningsvesker. Ufortynnet avløpsvann hadde pH 5.1. Avløpsvannet ble målt opp i målesylinder og fortynnet i målekolber med Maridalsvann til ønsket konsentrasjon. Testfiskene ble overført til ny løsning hvert døgn (semistatisk metode) og forsøket pågikk i 4 døgn. Konsentrasjonen av løst oksygen ved vannskift var 67-89 % av metningskonsentrasjonen. Fisken ble observert hvert døgn med hensyn til toksiske symptomer 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. Temperaturen under forsøkene var 11.7-12.4 °C.

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

pH		ca. 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. Ved 5.6 % døde alle innen få min, mens alle døde innen 10-20 min ved 3.2 %. Som det fremgår av tabellen var det kun en liten økning i mortalitet med tiden. Det ble også observert endel toksiske symptomer på overlevende fisk, disse observasjoner er gjengitt i tabell 3. NOEC er basert på høyeste konsentrasjon uten observerbare toksiske effekter.

$$96\text{h LC50} = 0.42 \% \quad 96\text{h NOEC} = 0.32 \%$$

Tabell 2. Kumulativt antall døde fisk (% i parentes) ved forskjellig eksponeringstid og konsentrasjon. LC50 og NOEC ved ulike tidspunkt er angitt nederst i tabellen. Ved både 5.6 og 3.2 % døde fisken innen 20 min.

Konsentrasjon %	Timer			
	24	48	72	96
0	0	0	0	0
0.32	0	0	0	0
0.56	2 (28 %)	7 (100%)	7 (100%)	7 (100%)
1.0	7 (100 %)	7 (100%)	7 (100%)	7 (100%)
1.8	7 (100 %)	7 (100%)	7 (100%)	7 (100%)
3.2	7 (100%)	7 (100%)	7 (100%)	7 (100%)
5.6	7 (100 %)	7 (100 %)	7 (100 %)	7 (100 %)
LC50	0.67 %	0.42 %	0.42 %	0.42 %
NOEC	0.32 %	0.32 %	0.32 %	0.32 %

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

Tabell 3. Observerte symptomer hos fisk eksponert for avløpsvann "Ekstraksjon PROD 1271, prøve nr 2". Når antall fisk er mindre enn 7 i sum er det fordi de andre fiskene er døde.

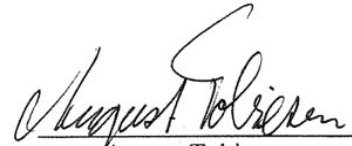
Tid	24 h
Konsentrasjon	0.56
Symptomer	
Sideleie svømming	1
Oppnød svømming	
Kun svak pusting	4

Tabell 4. Sammendrag av resultater for toksisitets test med "Ekstraksjon PROD 1271 prøve nr 2" på fisk (*Salmo trutta*).

	Observasjons tidspunkt			
	24 timer	48 timer	72 timer	96 timer
LC50 (%)	0.67	0.42	0.42	0.42
NOEC (%)	0.32	0.32	0.32	0.32
100 % Dødelighet (%)	1.0	0.56	0.56	0.56

Testen utført av: August Tobiesen

Testansvarlig:



August Tobiesen

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

Norsk
Institutt
for
Vannforskning

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

TEST RAPPORT

Akutt toksisitet - fisk

Salmo trutta

NIVA metode K15



Teststoff: Destruert vannfase fra R-4700, Batch 1260-006-97 (40-60 % Na-hyperkloritt) **Lab. kode:** B283/1
Kunde: Borregaard Synthesis **Motatt:** 29.07.97
Postboks 162, 1701 Sarpsborg

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 fiskevekt/vannvolum var (0.48 g/l) i overensstemmelse med fiskebelastning på <1.0 g/l anbefalt i OECD 203.

Testorganisme

Årsyngel (0+) av ørret (*Salmo trutta*), med middelvekt 0.69 g og middellengde 4.3 cm. Fisken var hentet fra OFAs oppdrettsanlegg i Sørkedalen 2 uker før testoppstart. Fisk ble ikke foret innen 1 døgn før teststart.

Test detaljer

Test organisme: Bekkeørret (*Salmo trutta*)
Test parameter: Mortalitet observert hver dag i 4 dager.
Opprinnelse av fisk: Oslo Fiskeadministrasjon Oppdrettsanlegg i Sørkedalen
Inntak av fisk: Fisk ankom NIVA 3 september 1997
Dato for oppstart: 15 september 1997
Test konsentrasjoner: 0.1, 0.18, 0.32, 0.56 og 1.0 % løsning av test avløpsvannet
Tillagning av løsninger: Test avløpsvannet ble målt opp i målesylinder og fortynnet i målekolbe
Test Medium: Fortynningsvann fra Maridalsvannet.
Test system: 36 l glass akvarier fylt med 10 l testløsning
Beregning av LC50: Kumulativ prosent mortalitet er plottet mot logaritmen til konsentrasjonen. LC50 er grafisk bestemt.
NOEC: Høyeste konsentrasjon uten observerte toksiske effekter.

Test betingelser

Lys: 16 timer lys 8 timer mørke
Temperatur: Målt daglig i kontroll akvariet. Maksimum temperatur var 14.8 °C og minimum var 14.1 °C.
pH: Målt før og etter vannskift hver dag. Kontroll start 6.7, slutt 6.5, Høyeste konsentrasjon start 7.4 slutt 7.8
Oksygen: Daglig måling før vannskift. Laveste måling 71 % oksygen metning høyeste måling 88 % oksygen metning.

Utførelse

Forsøket ble utført i glassakvarier med 10 l vann og 7 fisk i hver konsentrasjon av avløpsvann. Konsentrasjoner testet var 0,1, 0,18, 0,32, 0,56 og 1,0 % avløpsvann "Destruert vannfase R-4700", avløpsvannet hadde en klar gulaktig farge med noe lukt av løsningsveske. Avløpsvannet ble målt opp i målesylinder og fortynnet i målekolber med Maridalsvann til ønsket konsentrasjon. Testfiskene ble overført til ny løsning hvert døgn (semistatisk metode) og forsøket pågikk i 4 døgn. Konsentrasjonen av løst oksygen ved vannskift var 71-88 % av metningskonsentrasjonen. Fisken ble observert hvert døgn med hensyn til toksiske symptomer 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. Temperaturen under forsøkene var 14,0-14,8 °C.

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

pH		ca. 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. Ved 1,0 og 0,56 % døde alle innen 4 timer. Som det fremgår av tabellen var det kun en liten økning i mortalitet med tiden. Det ble ikke observert toksiske symptomer på overlevende fisk. NOEC er basert på høyeste konsentrasjon uten observerbare toksiske effekter. Et sammendrag av resultatene er gjengitt i tabell 3.

$$96\text{h LC50} = 0.42 \% \quad 96\text{h NOEC} = 0.18 \%$$

Tabell 2. Kumulativt antall døde fisk (% i parentes) ved forskjellig eksponeringstid og konsentrasjon av "Destruert vannfase R-4700". LC50 og NOEC ved ulike tidspunkt er angitt nederst i tabellen. Ved både 0,56 og 0,32 % døde fisken innen 4 timer.

Konsentrasjon %	Timer			
	24	48	72	96
0	0	0	0	0
0.1	0	0	0	0
0.18	0	0	0	0
0.32	0	1 (14 %)	1 (14 %)	1 (14 %)
0.56	7 (100 %)	7 (100%)	7 (100%)	7 (100%)
1.0	7 (100 %)	7 (100%)	7 (100%)	7 (100%)
LC50	0.42 %	0.42 %	0.42 %	0.42 %
NOEC	0.18 %	0.18 %	0.18 %	0.18 %

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

Tabell 3. Sammendrag av resultater for toksisitetstest med "Destruert vannfase R-4700" på fisk (*Salmo trutta*).

	Observasjons tidspunkt			
	24 timer	48 timer	72 timer	96 timer
LC50 (%)	0.42	0.42	0.42	0.42
NOEC (%)	0.32	0.18	0.18	0.18
100 % Dødelighet (%)	0.56	0.56	0.56	0.56

Testen utført av: August Tobiesen

Testansvarlig:


August Tobiesen

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

VEDLEGG 4

Nedbrytbarhetstester

TEST RAPPORT

Norsk
Institutt
for
Vannforskning

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

Nedbrytbarhet OECD 301F



Test stoff: Ekstraksjon PROD 1271. Toksiprøve 1 **Lab. kode:** B 273/1

Kunde: Borregaard Synthesis
Postboks 162, 1701 Sarpsborg

Prøve mottatt: 25.04.97 **Lagringsbetingelser:** Fryser ved -20°C

Test periode: 12. mai til 9. juni 1997.

Test betingelser:

Apparatur: Manometrisk respirometer, WTW 2001

**Nærings-
løsning:** OECD 301 Standard mineralløsninger. Ammonia: 1.3 mg N/L i preparert test-
løsning.

Inkubasjon: Mikroorganismer fra laboratorieproduert biologisk aktivt slam (Husmann unit) dyrket i OECD syntetisk kloakk, supplert med kommunalt kloakkvann dosert over 7 døgn før teststart. Slammet ble sentrifugert (2000 G i 10 min.) og resuspendert i BOD-næringssaltløsning for "utvasking" av løste stoffer. Etter gjentatt sentrifugering ble slammet resuspendert i næringssaltløsning til 3,8 g/L STS. Inokulumkonsentrasjon i testmediet: $3,3 \cdot 10^8$ CFU/L, 30 mg/L STS.

pH: Start 7.7 Slutt: 6.9

Referense: Anilin, 20 mg C/L. Lag-fase: 4 døgn.

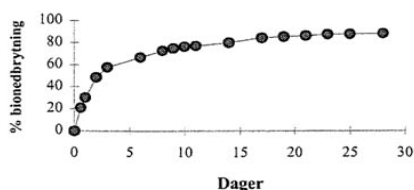
**Giftighets-
kontroll:** Anilin, 20 mg C/L tilsatt ved 1 : 500 fortyning av teststoffet.

**Konsentrasjon
av testprøve:** Teststoffet ble fortennet i næringssaltløsning til 0,1 % konsentrasjon (1:1000) i testmediet. 3 parallelle testflasker ble benyttet for bestemmelse av biokjemisk oksygenforbruk (BOD), og duplikater for løst organisk karbon (DOC). Kjemisk oksygenforbruk (COD_{Cr}) ble analysert ved 1:500 fortyning av prøven.

Results:

Parameter	BOD ₂₈	COD _{Cr}	DOC ₀	DOC ₂₈	DOC-fjerning
Beregnet i prøven	173 g/L	197 g/L	73 g/L	1,7 g/L	98 %

Bionedbrytnings-curve:



Bionedbrytbarhet:

$$\frac{BOD_{28}(\text{mg/L}) \cdot 100}{COD_{Cr}(\text{mg/L})} = 88 \%$$

Oslo, den 20. juni 1997

Testet av: Harry Efraimssen

Forskningsleder:

Torsten Källqvist

31.8.97

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

Side 1 av 3

Norsk institutt for vannforskning

ANALYSER OG RESULTATER:

Teststoff: Ekstraksjon PROD 1271. Toksiprøve 1

Lab. kode: B 273/1

Løst organisk karbon (DOC) mg/L:

Medium	Flaske	Startverdi	28 døgn
Inokulum	C1	0.7	1.5
"	C2	0.8	1.3
"	Cmv.	0.75	1.40
Teststoff. (Fl. 6)	A1	73.8	3.15
" (Fl. 7)	A2	73.6	3.1
"	Amv.	73.70	3.13
Korrigert (A-C)		72.95	1.73
DOC-reduksjon etter 28 døgn nedbrytning (%)			98

Kjemisk oksygenforbruk:

Konsentrasjon i testprøve	Replikater	COD _{Cr} mg/L
1: 500 fortynning	1	394

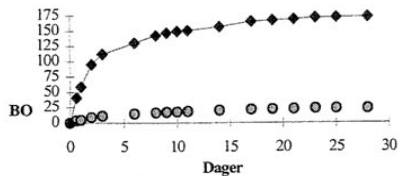
Biokjemisk oksygen forbruk: mg/L

Antall dager	3	8	14	21	28	BOD ₂₈ /COD
BOD mg/L Repl. 1	115	147	161	175	177	0,90
Repl. 2	111	142	155	171	174	0,88
Repl. 3	112	141	155	162	168	0,85

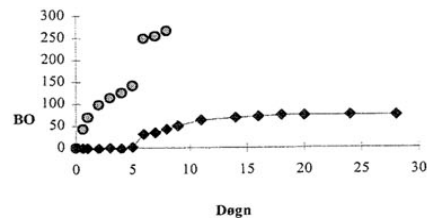
Bionedbrytning av referankestoffet (aniline) etter 14 døgn (BOD₁₄ · 100/ ThOD): = 78 %

Testprøve og blank, snittverdier:

Toksisitets kontroll: Testet ved 1:500 fortynning



○ Inokulum ◆ Substans



○ Anil.+subst. ◆ Anilin

Test prinsipp

Testprøven er inkubert i et bufret mineralsalt-medium i normalt 28 døgn ved 20 ± 1 °C. Testen utføres i lukkede flasker koblet til et manometer. Nedbrytningsproduktet karbondioksid (CO₂), som dannes under inkubasjon, absorberes i noen dråper av 10 mol KOH som er holdt i en spesiell kopp, ("sealing cup"). Det undertrykk som etableres i flasken blir registrert og transformert til BOD verdier. BOD verdiene blir så korrigert for oksygenforbruket som skyldes nitrifikasjon, basert på analyser av nitrat ved start og endt inkubasjon. Biologisk nedbrytbarhet er kalkulert fra forholdet mellom BOD/COD.

Graden av bionedbrytning er uttrykt som biokjemisk oksygen forbruk (BOD) målt ved endt inkubasjon (normalt 28 døgn) som prosent av kjemisk oksygen forbruk (COD).

Teststoffet er løselig i vann. En stamløsning ble preparert. 10 mL prøve ble fortynnet til 100 mL med destillert vann. Ca. 900 mL BOD-næringssaltløsning ble fylt i en 1000 mL volumetrisk flaske, og

Norsk institutt for vannforskning

Test prøve: Ekstraksjon PROD 1271. Toksiprøve 1 **Lab. kode:** B 273/1

10 mL av stamløsningen ble tilsatt med pipette. Etter pH kontroll, ble 7.8 mL inokulum suspensjon tilsatt. Til slutt ble det etterfylt med BOD-nærings saltløsning til en liter markert. Etter tilstrekkelig blanding av testmediet ble det fordelt i testflaskene med målekolbe.

Inokulum

Podematerialet (inokulum) ble produsert i en biologisk aktivslam simuleringsenhet (OECD, Husmann unit), dyrket på syntetisk kloakkvann (ISO 9887), periodisk forsynt med kommunalt avløpsvann. Biologisk aktivt slam ble sentrifugert ved 2000 G i ti minutter og supernatanten ble fjernet. Det partikulære materialet ble resuspendert i mineralsalt-medium og sentrifugert på nytt. Etter gjentatt resuspending i mineralsalt-medium ble slammet gjort klart til bruk ved en konsentrasjon på 6.8 g/L STS. 4.4 mL suspensjon ble brukt per liter testmedium. Inokulumkonsentrasjon i testmediet: 30.0 mg/l STS (tørstoff).

Referanse substans

Anilin ble brukt som referansesubstans, ved en konsentrasjon på 20 mg/L karbon. Gyldig BOD resultat skal være minst 60 % av teoretisk oksygenforbruk (ThOD) etter 14 døgn.

Giftighetskontroll

Anilin, 20 mg C/L, tilsatt teststoffet ved 1:500 fortynning i nærings saltløsning ble anvendt for påvisning av hemningseffekt. Det ble ikke påvist hemningseffekt ved anvendt testkonsentrasjon.

Måling av oppløst oksygen

Oppløst oksygen ble bestemt ved hjelp av et WTW OXI 2000 oksygen instrument. Avlesing ble foretatt i utvalgte testflasker ved start og i hver enkelt flaske etter inkubasjon. BOD-forløpet ble registrert ved manometeravlesing under inkubasjon. Verdien fra manometeravlesingen ble kalibrert mot oksygenverdien målt med elektrode etter 28 døgn.

Chemical oxygen demand (COD_{Cr})

Kjemisk oksygenforbruk (COD_{Cr}) ble analysert på 1:500 fortynnet prøve. En stamløsning ble preparert ved at 10 mL prøve ble fortynnet til 100 mL med destillert vann. 2 mL av stamløsningen ble fortynnet til 100 mL og konserverte for analyse.

Løst organisk karbon (DOC)

Løst organisk karbon (DOC) i testløsningen ble analysert ved Dohrmann DC 190 etter forbrenning ved 680 °C, med platina som katalysator (TC/TOC analyser).

Nitrat

NO₃-N konsentrasjon ble analysert i henhold til NS 4745 (Autoanalyser metode). Nitrat blir redusert til nitritt ved hjelp av kopper-impregnert kadmium i en bufferløsning ved pH 8.0 - 8.5. Dannet nitritt reagerer med sulfanilamid i sur løsning, og med tilstedeværelse av N-(1-naphthyl)-etylen diamin dannes et rødlig azo-fargesoff. Absorbansen blir så målt spektrofotometrisk ved 540 nm.

REFERANSER:

1. OECD Guideline for testing of chemicals. 301F Manometric Respirometry. Adopted July 1992.
2. NS-EN ISO 9408 Bestemmelse av fullstendig aerob biologisk nedbrytbarhet av organiske forbindelser i akvatisk medium. Metode ved bestemmelse av oksygenforbruket i et lukket respirometer. 1. utgave 1993.
3. NS-ISO 8245 Retningslinjer for bestemmelse av totalt organisk karbon (TOC) Første utgave 1991.
4. NS 4748 Bestemmelse av kjemisk oksygenforbruk. Oksidasjon av dikromat (COD_{Cr}). 2. utgave 1991.
5. NS 4745 Bestemmelse av summen av nitritt- og nitrat-nitrogen Spectrophotometric method. 2. utgave 1991.

TEST RAPPORT

Norsk
Institutt
for
Vannforskning

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

Nedbrytbarhet OECD 301F



Test stoff: Ekstraksjon PROD 1271. Toksiprove 2 **Lab. kode:** B 273/2
Kunde: Borregaard Synthesis
Postboks 162, 1701 Sarpsborg
Prøve mottatt: 25.04.97 **Lagringsbetingelser:** Fryser ved -20°C.
Test periode: 12. mai til 9. juni 1997.

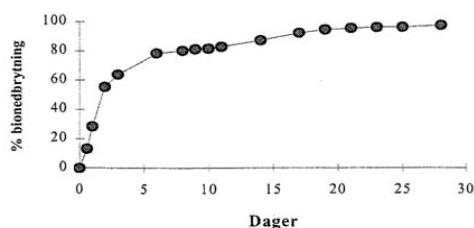
Test betingelser:

Apparatur: Manometrisk respirometer, WTW 2001
**Nærings-
løsning:** OECD 301 Standard mineralløsninger. Ammonia: 1.3 mg N/L i preparert test-
løsning.
Inkubasjon: Mikroorganismer fra laboratorieproduert biologisk aktivt slam (Husmann unit)
dyrket i OECD syntetisk kloakk, supplert med kommunalt kloakkvann dosert over 7
døgn før teststart. Slammet ble sentrifugert (2000 G i 10 min.) og resuspendert i
BOD-nærings saltløsning for "utvasking" av løste stoffer. Etter gjentatt
sentrifugering ble slammet resuspendert i nærings saltløsning til 3,8 g/L STS.
Inokulumkonsentrasjon i testmediet: $3,3 \cdot 10^8$ CFU/L, 30 mg/L STS.
pH: Start 7.7 Slutt: 6.9
Referense: Anilin, 20 mg C/L. Lag-fase: 4 døgn.
**Giftighets-
kontroll:** Anilin, 20 mg C/L tilsatt ved 1 : 500 fortyning av teststoffet.
**Konsentrasjon
av testprøve:** Teststoffet ble fortennet i nærings saltløsning til 0,1 % konsentrasjon (1:1000) i
testmediet. 3 parallelle testflasker ble benyttet for bestemmelse av biokjemisk
oksygenforbruk (BOD), og duplikater for løst organisk karbon (DOC).
Kjemisk oksygenforbruk (COD_{Cr}) ble analysert ved 1:500 fortennet prøve.

Results:

Parameter	BOD ₂₈	COD _{Cr}	DOC ₀	DOC ₂₈	DOC-fjerning
Beregnet i prøven	137 g/L	141 g/L	50,2 g/L	0,94 g/L	98 %

Bionedbrytnings-curve:



Bionedbrytbarhet:

$$\frac{BOD_{28}(\text{mg/L}) \cdot 100}{COD_{Cr}(\text{mg/L})} = 97\%$$

Oslo, den 20. juni 1997

Testet av: Harry Efraimssen

Forskningsleder:

Torsten Källqvist
Torsten Källqvist
31.8.97

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

Side 1 av 3

Norsk institutt for vannforskning

ANALYSER OG RESULTATER:

Teststoff: Ekstraksjon PROD 1271. Toksiprøve 2

Lab. kode: B 273/2

Løst organisk karbon (DOC) mg/L:

Medium	Flaske	Startverdi	28 døgn
Inokulum	C1	0.7	1.5
"	C2	0.8	1.3
"	Cmv.	0.75	1.40
Teststoff. (Fl. 12)	A1	50.3	2.45
" (Fl. 14)	A2	51.6	2.23
"	Amv.	50.95	2.34
Korrigert (A-C)		50.20	0.94
DOC-reduksjon etter 28 døgn nedbrytning (%)			98

Kjemisk oksygenforbruk:

Konsentrasjon i testprøve	Replikater	COD _{Cr} mg/L
1: 500 fortyning	1	70,5

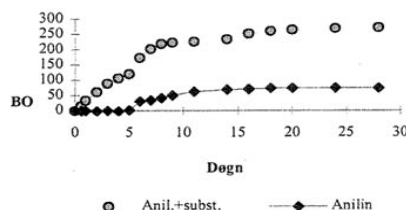
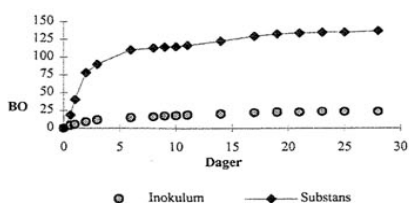
Biokjemisk oksygen forbruk: mg/L

Antall dager	3	8	14	21	28	BOD ₂₈ /COD
BOD mg/L Repl. 1	91,7	116	125	136	139	0,98
Repl. 2	85,5	109	119	132	134	0,95
Repl. 3	93,1	114	127	136	139	0,98

Bionedbrytning av referankestoffet (anilin) etter 14 døgn (BOD₁₄ · 100/ ThOD): = > 60 %

Testprøve og blank, snittverdier:

Toksisitets kontroll: Testet ved 1:500 fortyning



Test prinsipp

Testprøven er inkubert i et bufret mineralsalt-medium i normalt 28 døgn ved 20 ± 1 °C. Testen utføres i lukkede flasker koblet til et manometer. Nedbrytningsproduktet karbondioksid (CO₂), som dannes under inkubasjon, absorberes i noen dråper av 10 mol KOH som er holdt i en spesiell kopp, ("sealing cup"). Det undertrykk som etableres i flasken blir registrert og transformert til BOD verdier. BOD verdiene blir så korrigert for oksygenforbruket som skyldes nitrifikasjon, basert på analyser av nitrat ved start og endt inkubasjon. Biologisk nedbrytbarhet er kalkulert fra forholdet mellom BOD/COD.

Graden av bionedbrytning er uttrykt som biokjemisk oksygen forbruk (BOD) målt ved endt inkubasjon (normalt 28 døgn) som prosent av kjemisk oksygen forbruk (COD).

Teststoffet er løselig i vann. En stamløsning ble preparert. 10 mL prøve ble fortennet til 100 mL med destillert vann. Ca. 900 mL BOD-nærings saltløsning ble fylt i en 1000 mL volumetrisk flaske, og

Norsk institutt for vannforskning

Test prøve: Ekstraksjon PROD 1271. Toksiprøve 2**Lab. kode:** B 273/2

10 mL av stamløsningen ble tilsatt med pipette. Etter pH kontroll, ble 7.8 mL inokulum suspensjon tilsatt. Til slutt ble det etterfylt med BOD-næringssaltløsning til en liter marked. Etter tilstrekkelig blanding av testmediet ble det fordelt i testflaskene med målekolbe.

Inokulum

Podematerialet (inokulum) ble produsert i en biologisk aktivslam simuleringsenhet (OECD, Husmann unit), dyrket på syntetisk kloakkvann (ISO 9887), periodisk forsynt med kommunalt avløpsvann. Biologisk aktivt slam ble sentrifugert ved 2000 G i ti minutter og supernatanten ble fjernet. Det partikulære materialet ble resuspendert i mineralsalt-medium og sentrifugert på nytt. Etter gjentatt resuspending i mineralsalt-medium ble slammet gjort klart til bruk ved en konsentrasjon på 6.8 g/L STS. 4.4 mL suspensjon ble brukt per liter testmedium. Inokulumkonsentrasjon i testmediet: 30.0 mg/l STS (tørstoff).

Referanse substans

Anilin ble brukt som referansesubstans, ved en konsentrasjon på 20 mg/L karbon. Gyldig BOD resultat skal være minst 60 % av teoretisk oksygenforbruk (ThOD) etter 14 døgn.

Giftighetskontroll

Anilin, 20 mg C/L, tilsatt teststoffet ved 1:500 fortyning i næringssaltløsning ble anvendt for påvisning av hemningseffekt. Det ble ikke påvist hemningseffekt ved anvendt testkonsentrasjon.

Måling av oppløst oksygen

Oppløst oksygen ble bestemt ved hjelp av et WTW OXI 2000 oksygen instrument. Avlesing ble foretatt i utvalgte testflasker ved start og i hver enkelt flaske etter inkubasjon. BOD-forløpet ble registrert ved manometeravlesing under inkubasjon. Verdien fra manometeravlesingen ble kalibrert mot oksygenverdien målt med elektrode etter 28 døgn.

Chemical oxygen demand (COD_{Cr})

Kjemisk oksygenforbruk (COD_{Cr}) ble analysert på 1:500 fortynt prøve. En stamløsning ble preparert ved at 10 mL prøve ble fortynt til 100 mL med destillert vann. 2 mL av stamløsningen ble fortynt til 100 mL og konserverte for analyse.

Løst organisk karbon (DOC)

Løst organisk karbon (DOC) i testløsningen ble analysert med Dohrmann DC 190 etter forbrenning ved 680 °C, med platina som katalysator (TC/TOC analyzer).

Nitrat

NO₃-N konsentrasjon ble analysert i henhold til NS 4745 (Autoanalyzer metode). Nitrat blir redusert til nitritt ved hjelp av kopper-impregnert kadmium i en bufferløsning ved pH 8.0 - 8.5. Dannet nitritt reagerer med sulfanilamid i sur løsning, og med tilstedeværelse av N-(1-naphthyl)-etylen diamin dannes et rødlig azo-fargesstoff. Absorbansen blir så målt spektrofotometrisk ved 540 nm.

REFERANSER:

1. OECD Guideline for testing of chemicals. 301F Manometric Respirometry. Adopted July 1992.
2. NS-EN ISO 9408 Bestemmelse av fullstendig aerob biologisk nedbrytbarhet av organiske forbindelser i akvatisk medium. Metode ved bestemmelse av oksygenforbruket i et lukket respirometer. 1. utgave 1993.
3. NS-ISO 8245 Retningslinjer for bestemmelse av totalt organisk karbon (TOC) Første utgave 1991.
4. NS 4748 Bestemmelse av kjemisk oksygenforbruk. Oksidasjon av dikromat (COD_{Cr}). 2. utgave 1991.
5. NS 4745 Bestemmelse av summen av nitritt- og nitrat-nitrogen Spectrophotometric method. 2. utgave 1991.

TEST RAPPORT

Norsk
Institutt
for
Vannforskning

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

Nedbrytbarhet
OECD 301F



Test stoff: Destruert vannfase R4700 Batch 1260-006-97 **Lab. kode:** B 283/1

Kunde: Borregaard Synthesis
Postboks 162, 1701 Sarpsborg

Prøve mottatt: 27.07.97 **Lagringsbetingelser:** Fryser ved -20°C.

Test periode: 12. aug. til 9. sept. 1997.

Test betingelser:

Apparatur: Manometrisk respirometer, WTW 2001

**Nærings-
løsning:** OECD 301 Standard mineralløsninger. Ammonia: 1.3 mg N/L i preparert test-
løsning.

Inkubasjon: Mikroorganismer fra laboratorieprodusert biologisk aktivt slam (Husmann unit) dyrket i OECD syntetisk kloakk, supplert med kommunalt kloakkvann dosert over 14 døgn før teststart. Slammet ble sentrifugert (2000 G i 10 min.) og resuspendert i BOD-nærings-saltløsning for "utvasking" av løste stoffer. Etter gjentatt sentrifugering ble slammet resuspendert i nærings-saltløsning til 5,34 g/L STS. Inokulumkonsentrasjon i testmediet: $1,4 \cdot 10^7$ CFU/L, 30 mg/L STS.

pH: Start 7.5 Slutt: 7.9

Referense: Anilin, 20 mg C/L. Lag-fase: 4 døgn.

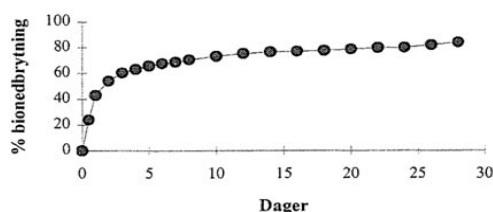
**Giftighets-
kontroll:** Anilin, 20 mg C/L tilsatt ved 1 : 500 fortyning av teststoffet.

**Konsentrasjon
av testprøve:** Teststoffet ble fortynt i nærings-saltløsning til 0,1 og 0,05 % konsentrasjon i testmediet. 3 og 2 parallelle testflasker ble benyttet for bestemmelse av biokjemisk oksygenforbruk (BOD), og duplikater for løst organisk karbon (DOC). Kjemisk oksygenforbruk (COD_{Cr}) ble analysert ved 1:500 og 1:1000 fortyning.

Results:

Parameter	BOD_{28}	COD_{Cr}	DOC_0	DOC_{28}	DOC-fjerning
Beregnet i prøven	195 g/L	231g/L	67 g/L	4,3 g/L	94 %

Bionedbrytnings-curve:



Bionedbrytbarhet:

$$\frac{BOD_{28}(\text{mg/L}) \cdot 100}{COD_{Cr}(\text{mg/L})} = 84\%$$

Oslo, den 20. september 1997

Testet av: Harry Efraimssen

Forskningsleder:

Torsten Källqvist
Torsten Källqvist
8.10.97

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

Side 1 av 3

Norsk institutt for vannforskning

ANALYSER OG RESULTATER:

Teststoff: Destruert vannfase R4700 Batch 1260-006-97 Lab. kode: B 283/1

Løst organisk karbon (DOC) mg/L:

Medium	Flaske	Startverdi	28 døgn
Inokulum	C1	0.5	0.8
"	C2	0.7	0.8
"	Cmv.	0.60	0.80
Teststoff. (Fl. 6)	A1	66.8	5
" (Fl. 7)	A2	68.5	5.2
"	Amv.	67.65	5.10
Korrigert (A-C)		67.05	4.30
DOC-reduksjon etter 28 døgn nedbrytning (%)			94

Kjemisk oksygenforbruk:

Konsentrasjon i testprøve	Replikater	COD _{Cr} mg/L
1: 500 fortyning	1	463
1:1000 fortyning	1	231

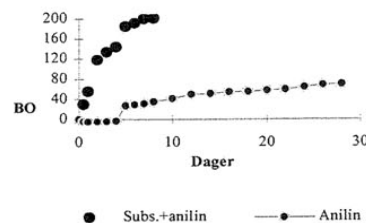
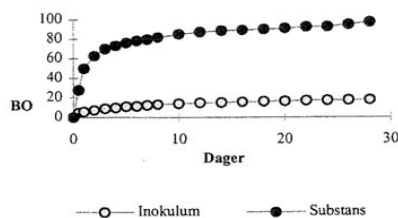
Biokjemisk oksygen forbruk: mg/L

Antall dager	3	7	14	21	28	BOD ₂₈ /COD
BOD mg/L Repl. 1	71,4	82,8	90,8	92,6	98,2	0,85
Repl. 2	68,8	77	86,8	92,2	96,7	0,84

Bionedbrytning av referankestoffet (anilin) etter 14 døgn (BOD₁₄ · 100/ ThOD):= 64 %

Testprøve og blank, snittverdier:

Toksisitets kontroll: Testet ved 1:500 fortyning



Test prinsipp

Testprøven er inkubert i et bufret mineralsalt-medium over normalt 28 døgn ved 20 ± 1 °C. Testen utføres i lukkede flasker koblet til et manometer. Nedbrytningsproduktet karbondioksid (CO₂), som dannes under inkubasjon, absorberes i noen dråper av 10 mol KOH som er holdt i en spesiell kopp, ("sealing cup"). Det undertrykk som etableres i flasken blir registrert og transformert til BOD verdier. BOD verdiene blir så korrigert for oksygenforbruket som skyldes nitrifikasjon, basert på analyser av nitrat ved start og endt inkubasjon. Biologisk nedbrytbarhet er kalkulert fra forholdet mellom BOD/COD.

Graden av bionedbrytning er uttrykt som biokjemisk oksygen forbruk (BOD) målt ved endt inkubasjon (normalt 28 døgn) som prosent av kjemisk oksygen forbruk (COD).

Teststoffet er løselig i vann. 10 mL teststoff ble fortynnet med destillert vann til 100 mL i en målekolbe (stamløsning). 10 ml av stamløsningen ble tilsatt ca. 1900 mL BOD-næringssaltløsning i en

Norsk institutt for vannforskning

Test prøve: Destruert vannfase R4700 Batch 1260-006-97 **Lab. kode:** B 283/1

2000 mL volumetrisk flaske. Etter pH kontroll, ble 5.6 mL inokulum suspensjon tilsatt. Til slutt ble det etterfylt med BOD-næringssaltløsning til to liter market. Etter omhyggelig blanding av testmediet ble det fordelt i testflaskene med bruk av målekolbe.

Inokulum

Podematerialet (inokulum) ble produsert i en biologisk aktivslam simuleringsenhet (OECD, Husmann unit), dyrket på syntetisk kloakkvann (ISO 9887), periodisk forsynt med kommunalt avløpsvann. Biologisk aktivt slam ble sentrifugert ved 2000 G i ti minutter og supernatanten ble fjernet. Det partikulære materialet ble resuspendert i mineralsalt-medium og sentrifugert på nytt. Etter gjentatt resuspending i mineralsalt-medium ble slammet gjort klart til bruk ved en konsentrasjon på 5.34 g/L STS. 5,62 mL suspensjon ble brukt per liter testmedium. Inokulumkonsentrasjon i testmediet: 30.0 mg/l STS (tørrstoff).

Referanse substans

Anilin ble brukt som referansesubstans, ved en konsentrasjon på 20 mg/L karbon. Gyldig BOD resultat skal være minst 60 % av teoretisk oksygenforbruk (ThOD) etter 14 døgn.

Giftighetskontroll

Anilin, 20 mg C/L, tilsatt teststoffet ved 1:500 fortyning i næringssaltløsning ble anvendt for påvisning av giftighet. Det ble ikke påvist hemningseffekt ved anvendt testkonsentrasjon.

Måling av oppløst oksygen

Oppløst oksygen ble bestemt ved hjelp av et WTW OXI 2000 oksygen instrument. Avlesing ble foretatt i utvalgte testflasker ved start og i hver enkelt flaske etter inkubasjon. BOD-forløpet ble registrert ved manometeravlesing under inkubasjon. Verdien fra manometeravlesingen ble kalibrert mot oksygenverdien målt med elektrode etter 28 døgn.

Chemical oxygen demand (COD_{Cr})

Kjemisk oksygenforbruk (COD_{Cr}) ble analysert på 1:500 og 1:1000 fortynnede prøver. En stamløsning ble preparert ved at 10 mL prøve ble fortennet til 100 mL med destillert vann. 1 og 2 mL av stamløsningen ble separat fortennet til 100 mL og konserverte for analyse.

Løst organisk karbon (DOC)

Løst organisk karbon (DOC) i testløsningen ble analysert med Dohrmann DC 190 etter forbrenning ved 680 °C, med platina som katalysator (TC/TOC analyzer).

Nitrat

NO₃-N konsentrasjon ble analysert i henhold til NS 4745 (Autoanalyser metode). Nitrat blir redusert til nitritt ved hjelp av kopper-impregnert kadmium i en bufferløsning ved pH 8.0 - 8.5. Dannet nitritt reagerer med sulfanilamid i sur løsning, og med tilstedeværelse av N-(1-naphthyl)-etylen diamin dannes et rødlig azo-fargesstoff. Absorbansen blir så målt spektrofotometrisk ved 540 nm.

REFERANSER:

1. OECD Guideline for testing of chemicals. 301F Manometric Respirometry. Adopted July 1992.
2. NS-EN ISO 9408 Bestemmelse av fullstendig aerob biologisk nedbrytbarhet av organiske forbindelser i akvatisk medium. Metode ved bestemmelse av oksygenforbruket i et lukket respirometer. 1. utgave 1993.
3. NS-ISO 8245 Retningslinjer for bestemmelse av totalt organisk karbon (TOC) Første utgave 1991.
4. NS 4748 Bestemmelse av kjemisk oksygenforbruk. Oksidasjon av dikromat (COD_{Cr}). 2. utgave 1991.
5. NS 4745 Bestemmelse av summen av nitritt- og nitrat-nitrogen Spectrophotometric method. 2. utgave 1991.