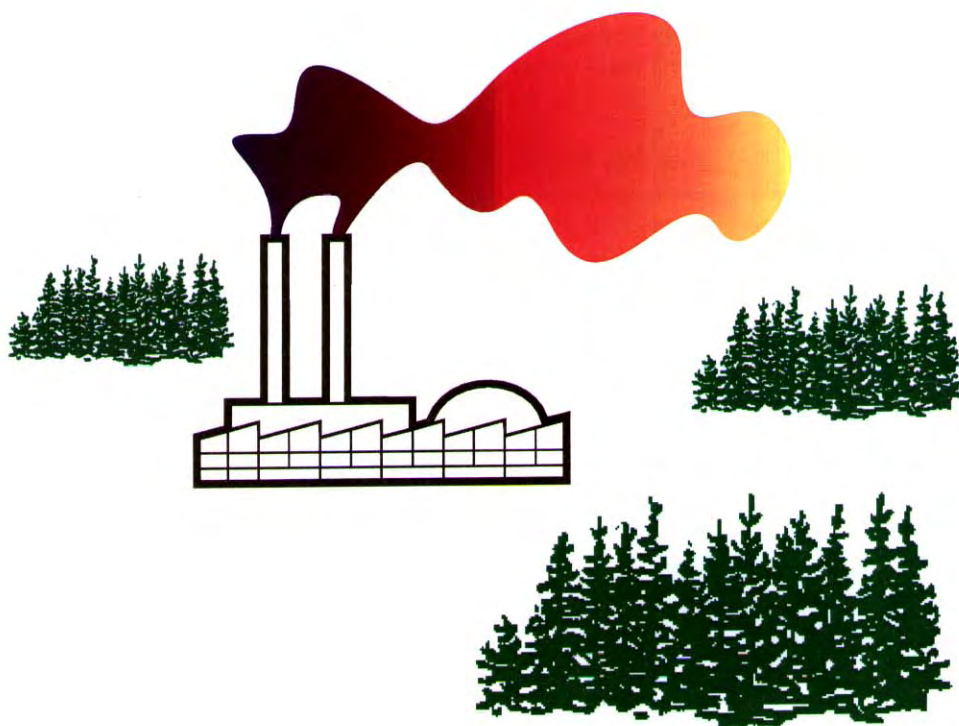


NIVA



RAPPORT LNR 3948-98

Økotoxikologisk
karakterisering av
avløpsvann fra
tømmerrenseri ved
Norske Skog, Follum
fabrikker



Hovedkontor

Postboks 173, Kjelsås
0411 Oslo
Telefon (47) 22 18 51 00
Telefax (47) 22 18 52 00
Internet: www.niva.no

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
5008 Bergen
Telefon (47) 55 30 22 50
Telefax (47) 55 32 88 33

Akvaplan-NIVA A/S

9015 Tromsø
Telefon (47) 77 68 52 80
Telefax (47) 77 68 05 09

| | | |
|--|------------------------------------|--------------------|
| Tittel Økotoksikologisk karakterisering av avløpsvann fra tømmerrenseri ved Norske Skog, Follum fabrikker | Løpenr. (for bestilling) - 3948 | Dato 13/11 1998 |
| | Prosjektnr. Undernr. 98143 | Pris 60 |
| Forfatter(e) Harry Efraimsen Torsten Källqvist | Fagområde Økotoksikologi | Distribusjon |
| | Geografisk område Buskerud | Trykket NIVA |

| | |
|--|---|
| Oppdragsgiver(e) Norske Skogindustrier ASA Follum fabrikker 3501 HØNEFOSS | Oppdragsreferanse Astri Borch Due Anders M. Sørli |
|--|---|

| |
|--|
| <p>Sammendrag</p> <p>Det er gjennomført en økotoksikologisk karakterisering av avløpsvann fra tømmerrenseri ved Norske Skog, Follum fabrikker ved Hønefoss. Karakteriseringen har omfattet kjemiske analyser og økotoksikologiske tester, nedbrytbarhet og bioakkumuleringspotensiale.</p> <p>Avløpsvannet inneholdt organisk materiale målt som kjemisk oksygenforbruk (450 mg/l) og total organisk karbon (160 mg/l) som er nedbrytbart. Innholdet av det oppløste organiske materialet (DOC) viser at 20.25 % av det organiske materialet er bundet til partikler eller fibre. Nedbrytbarhetstesting viste en DOC-reduksjon med ca. 32-35 % i løpet av 28 døgn, mens biokjemisk oksygenforbruk (BOD) som funksjon av kjemisk oksygenforbruk (COD) viste en nedbrytning på hele 77% i testperioden. Toksisitetstestene med alger, krepsdyr og fisk viste at avløpsvannet ikke er akutte giftig. En signifikant veksthemning ble kun påvist i toksitetstest med alger. Innholdet av bioakkumulerbare komponenter, uttrykt som komponenter med fordelingskoeffisient mellom oktanol og vann større enn 1000 ($\log P_{ow} > 3$), er meget lavt og i betydelig grad bionedbrytbare.</p> |
|--|

| | |
|--|--|
| <p>Fire norske emneord</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. Avløpsvann 2. Treforedling 3. Toksisitet 4. Nedbrytbarhet | <p>Fire engelske emneord</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. Waste water 2. Pulp and paper industry 3. Toxicity 4. Biodegation |
|--|--|

Harry E. Efraimsen
Prosjektleder

ISBN 82-577-3553-1

Reiner J. Lokenhales
Forskningsjef

**Økotoksikologisk karakterisering av avløpsvann
fra renseanlegget ved Norske Skog,
Follum fabrikker**

Forord

Follum fabrikk har etter pålegg fra SFT henvendt seg til NIVA for å få utført økotoksikologisk karakterisering av avløpsvannet fra renseanlegget. Et forslag til program for undersøkelsen ble utarbeidet av NIVA og oversendt 29 november 1997.

Prøvene ble tatt av bedriften i perioden 3.8. - 10.8. 1998, og mottatt NIVA den 10. 8. 1998. Karakteriseringen ble avsluttet i november 1998.

Oslo, 12 november 1998

Harry R. Efraimsen

Innhold

| | |
|---|-----------|
| Sammen drag | 5 |
| Summary | 6 |
| 1. PROGRAM FOR KARAKTERISERINGEN | 7 |
| 1.1 AVLØPSVANN | 7 |
| 1.2 PRØVETAKING | 7 |
| 1.3 KJEMISK KARAKTERISERING | 7 |
| 1.4 TOKSISITETSTESTER | 7 |
| 1.4.1 Ferskvannstester | 7 |
| 1.5 NEDBRYTBARHETSTESTER | 8 |
| 1.6 BIOAKKUMULERBARHET | 9 |
| 2. RESULTATER | 9 |
| 2.1 DØGNPRØVER | 9 |
| 2.2 UKEBLANDPRØVE | 10 |
| 2.2.1 Biologisk/kjemisk karakterisering | 10 |
| 2.2.2 Nedbrytbarhet | 10 |
| 2.2.3 Toksisitet | 11 |
| 2.2.4 Bioakkumulering | 12 |
| 3. DISKUSJON | 12 |
| VEDLEGG 1 Toksisitetstest med alger | 14 |
| VEDLEGG 2 Toksisitetstert med krepsdyr | 18 |
| VEDLEGG 3 Toksisitetstest med fisk | 21 |
| VEDLEGG 4 Nedbrytbarhetstester | 25 |
| VEDLEGG 5 Bioakkumulering | 33 |

Sammendrag

Norske Skog, Follum fabrikk ved Hønefoss har samlet inn døgnproposjonale prøver av avløpsvann fra renseanlegget over en arbeidsuke (uke 32 1998). Døgnprøvene av avløpsvannet ble blandet til en ukeblandprøve og preparert for fysisk/kjemisk og økotoksikologisk karakterisering.

Toksisiteten ble undersøkt med bruk av ferskvannsorganismer (alger, krepsdyr og fisk). Biologisk nedbrytbarhet av organiske komponenter ble testet i henhold til OECD Guidelines 301 A og F. Innholdet av potensiell bioakkumulerbare komponenter (fordelingskoeffisient oktanol/vann, P_{ow}) ble kvantifisert ved separasjon av lipofile fraksjoner ved bruk av tynnskikt-kromatografi.

Resultatene viser at avløpsvannet er lite giftig. Det ble ikke påvist akutte effekter på vannlopper eller fisk ved konsentrasjoner opp til 100 resp. 56%. En svak veksthemmende effekt på ble observert, men avløpsvannets farge kan ha bidratt til dette ved redusert lystilgang ved høye konsentrasjoner av avløpsvann.

Avløpsvannet inneholdt moderat mengde organisk materiale (TOC = 160 mg/l), hvor ca 20-25% var bundet til partikler. Nedbrytbarhetstestene viste at en delfraksjon er relativt lett nedbrytbart, mens hoveddelen av det organiske materialet brytes ned langsomt. Nedbrytbarhetstesting viste en DOC-reduksjon på ca. 32-35 % i løpet av 28 døgn, mens biokjemisk oksygenforbruk (BOD_{28}) som funksjon av kjemisk oksygenforbruk (COD_{Cr}) viste en nedbrytning på 77% i testperioden. Hovedårsaken til den store forskjellen antas å være utlekking av partikkelbundet organisk karbon, og at mikroorganismenes metabolske prosesser krever relativt mye oksygen under stoffomsetningen.

Innholdet av potensiell bioakkumulerbare stoffer (PBS) i avløpsvannet var svært lavt, og betydelig lavere enn de aksjonsgrenseverdier for avløpsvann som f. eks er praktisert av Naturvårdsverket i Sverige. Karakteriseringen før og etter bionedbrytning viste at 68 % av de PBS var eliminert etter 28 døgns nedbrytning.

Summary

Effluent from a wastewater treatment plant at Norske Skog, Follum factories, was collected proportionally to the flow, and on a daily basis over one week. A composite sample was prepared for chemical and ecotoxicological characterisation. Toxicity was investigated using freshwater organisms (algae, crustacean and fish). The biodegradability of organic compounds was investigated according to OECD Guidelines 301 A and F. The content of potentially bioaccumulative components was quantified using separation of lipophilic fractions by thin layer chromatography.

The results show that the wastewater is not acute toxic against crustacean and fish, although a slightly but significant effect was observed on the alga *Selenastrum capricornutum*. Reduced light availability caused by the coloured wastewater may, however, have contributed to the growth reduction at high test concentrations.

The concentration of organic matter is moderate (TOC = 160 mg/l), with 20-25% associated to particles. The biodegradation tests showed that a minor portion of the organic content was readily biodegradable, but the main part was more resistant against biodegradation. The total removal of DOC during the 28 days biodegradation test was 32-35 %. The degradation expressed as the ratio between biochemical oxygen consumption (BOD_{28}) and chemical oxygen demand (COD_{Cr}) was 77 %. The discrepancy between the two estimates of degradation is explained by leakage of carbon from particles during incubation, and high metabolic respiration.

The content of potentially bioaccumulative components was very low and was eliminated by 68 % in the course of 28 days biodegradation.

Title: Ecotoxicological characterisation of waste water from Norske Skog, Follum.

Year: 1998

Author: Harry Efraimssen and Torsten Källqvist

Source: Norwegian Institute for Water Research, ISBN No.: ISBN 82-577-3553-1

1. PROGRAM FOR KARAKTERISERINGEN

1.1 AVLØPSVANN

Avløpsvann fra rensenanlegget ble tatt ut som døgnpøver og 25 liter delprøve ble tatt ut. Delprøvene ble oppbevart frosset eller lagret kjølig for å få minst mulig endring i fysisk-kjemisk og biokjemisk kvalitet før karakteriseringen.

Prøvetakingen og behandlingen av prøvene ble utført av bedriften.

1.2 PRØVETAKING

Avløpsvann ble tatt ut som mengdeproposjonale døgnpøver (fra kl. 07 til 07 neste dag) i perioden 3.8 til 7.8 og frosset. I perioden 7.8. til 10.8 (over helgen) ble det tatt ut vann til to kanner a. 25 liter (plastkanner). Prøvene ble transportert til NIVA 10.8, og blandet proposjonalt med vannmenden ut fra rensenanlegget for hele ukeperioden.

Delprøver av den homogeniserte blandprøven ble tatt ut for økotoksikologisk karakterisering. Delprøver som ikke kunne startes den påfølgende dag ble frosset i påvente av testing. Døgnpøvene ble analysert med hensyn til pH og kjemisk oksygenforbruk (COD_{Cr}) av NIVA.

1.3 KJEMISK KARAKTERISERING

Den kjemiske karakteriseringen av avløpsvannet (ukeblandprøve) omfattet:

- pH-verdi
- konduktivitet
- kjemisk oksygenforbruk
- biokjemisk oksygenforbruk (COD_{Cr})
- totalt organisk karbon (TOC)
- suspendert materiale
- total nitrogen
- total fosfor

1.4 TOKSISITETSTESTER

Ved undersøkelse av avløpsvannenes toksisitet ble det benyttet ferskvannsorganismer.

1.4.1 Ferskvannstester

Toksisitetstesten med ferskvannsalger ble utført i henhold til OECD Guideline 201 og ISO/DIS 8692 "Algal growth inhibition test", med *Selenastrum capricornutum* som testorganisme. En konsentrasjonsserie av prøven i et algevekstmedium ble podet med aktivt voksende testalger fra en stamkultur og inkubert under standard betingelser på et gyngebord med kontinuerlig belysning (ca. $80 \mu E m^{-2} s^{-1}$) og ved temperaturen $20 ^\circ C$.

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 ble tegnet opp i et konsentrasjon/responsdiagram. Fra dette ble EC_{50} -verdien bestemt ved probit-analyse.

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

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

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

1.5 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 1:10 med fortyningsmedium for å få en konsentrasjon av organisk karbon som er egnet for metoden. Uorganiske næringsalter ble tilsatt og prøven inokulert med mikroorganismer fra et laboratorie-aktivt slamanlegg. 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. Utviklingen i 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, algetoksisitet og bioakkumulerbarhet) på vann som hadde gjennomgått nedbrytbarhetstest.

For å få nok vann til karakteriseringen etter nedbrytning ble det parallelt med respirometer-testen satt opp en nedbrytbarhetstest (OECD 301 A: Die-Away test) med større volum. Avløpsvannet til denne nedbrytbarhetstesten ble fortynnet til 1:3 konsentrasjon av avløpsvann. For karakterisering av stoffer etter nedbrytning er det fordelaktig med en lavest mulig fortyning av testprøven slik at analysenøyaktigheten blir så høy som mulig, men at giftvirkning ikke oppstår under nedbrytningen. Forbehandling, inokulering og inkubering ble foretatt på

samme måte som for respirometertesten. Nedbrytningen av organisk materiale ble fulgt ved DOC-analyser.

1.6 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 (tynnsjiktskromatografi 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 $P_{ow} > 1000$ ($\log P_{ow} > 3$).

2. RESULTATER

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

2.1 DØGNPRØVER

Resultatene av analysene av døgnprøver er vist i tabell 1.

Tabell 1. Målt vannføring på prøvestedene og resultater av analyser av døgnprøver.

| Dato | Avløpsvann fra tømmerrenseri | | |
|-------------|------------------------------|------|--------------|
| | m ³ /døgn | pH | KOF (mg O/L) |
| 03.08.98 | 26,0 | 7,36 | 510 |
| 04.08.98 | 24,3 | 7,48 | 497 |
| 05.08.98 | 24,9 | 7,36 | 410 |
| 06.08.98 | 23,0 | 7,40 | 418 |
| 07.-10.98 | 24,2 | 7,45 | 440 |
| Middelverdi | 24,4 | | |

Analysene på de enkelte døgnprøver viser at avløpsvannets kvalitet er relativt stabilt med hensyn til surhetsgrad og innhold av organisk materiale.

2.2 UKEBLANDPRØVE

2.2.1 Biologisk/kjemisk karakterisering

Resultatet av den kjemiske karakteriseringen av avløpsvannet er vist i tabell 2. Innholdet av næringssalter er relativt lavt. Konduktiviteten tilsvarer et saltinnhold på ca 700 mg/l. Innholdet av suspendert materiale er forholdsvis lavt. Analysen er utført i henhold til NS 4733 som definerer bruk av filter av glassfiber for STS-bestemmelsen. Filterne holder tilbake 98% av partikler større enn 0,001mm. Analysene av organisk karbon viser en differanse på 27 mg/l mellom totalt (TOC) og løst (DOC) karbon. Denne forskjellen utgjøres av partikkelbundet karbon og indikerer at STS bør være 45-50 mg/l. Differansen kan forklares med at det ved DOC-bestemmelsen benyttes membranfiltre med en porestørrelse på 0,45 µm, og at små partikler (0,45 til 1,0 µm) utgjør ca. halvparten av det partikkelbundete karbon i vannet.

Innholdet av løst organisk stoff (DOC) samsvarer godt med den analyserte verdi for kjemisk oksygenforbruk (COD). Dette indikerer at en fraksjon (ca.20-25 %) av det organiske materialet er tungt oksiderbart, som bekreftes ved den analyserte TOC-verdi for avløpsvannet.

Tabell 2. Kjemiske analyser av blandprøver av avløpsvannet

| Analysevariabel | Enhet | Blandprøve |
|---|--------|------------|
| pH | | 7,67 |
| Konduktivitet | mS/m | 115 |
| Suspendert tørrstoff | mg/l | 25 |
| Kjemisk oksygenforbruk (COD _{Cr}) | mg O/l | 451 |
| Totalt organisk karbon (TOC) | mg/l | 160 |
| Løst organisk karbon (DOC) | mg/l | 133 |
| Totalt nitrogen (Tot. N) | µg/l | 180 |
| Totalt fosfor (Tot. P) | mg/l | 0,5 |

2.2.2 Nedbrytbarhet

Resultatene fra hovedtesten for bestemmelse av nedbrytbarhet (OECD 301 F) er vist i tabell 3.

Tabell 3. Resultater av biokjemisk nedbrytning av organiske stoffer i avløpsvannet.

| Parameter | BOD ₂₈ mg/l | COD _{Cr} mg/l | DOC ₀ mg/l | DOC ₂₈ mg/l | DOC- fjerning |
|---------------------|---------------------------|---------------------------|--------------------------|---------------------------|------------------|
| Beregnet i avløpsv. | 352 | 454 | 133 | 90 | 32 % |

Nedbrytbarhetstestene viste et relativt raskt oksygenforbruk innledningsvis med et BOD₇/COD forhold på ca.50%. (Se fig. 2).

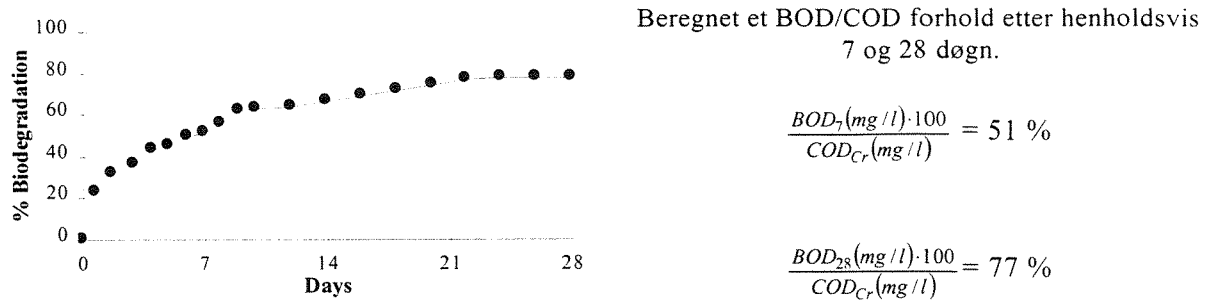


Fig. 1. Bionedbryningskurve for organisk stoff i avløpsvannet, basert på måling av biokjemisk oksygenforbruk som funksjon av kjemisk oksygenforbruk (BOD/COD_{Cr})

BOD-verdiene i prosent av kjemisk oksygenforbruk (COD) og reduksjonen i avløpsvannets innhold av oppløst organisk karbon (DOC) etter 28 døgns nedbrytning, viser graden av nedbrytning av organisk stoff. Det ble oppnådd en nedbrytning på 77 % målt som BOD_{28}/COD forhold, mens DOC-reduksjon for samme testperiode var på henholdsvis 32 og 35% i to separate tester (OECD 301 F og 301 A).

Forklaringen til dette kan være at det for det første kreves mye oksygen under katabolismen for at mikroorganismene kan nyttiggjøre seg av de organiske stoffene til anabolismen. Under nedbrytningsprosessen kan det i tillegg frigis partikkelbundet organisk materiale som påvirker DOC-konsentrasjonen ved testslutt, eller at det også er løste organiske stoffer i vannet som i liten grad påvirkes av nedbrytning under testperioden. Det er normalt at prosentvis DOC-reduksjon er lavere enn BOD_{28}/COD forholdet, men for dette avløpsvannet var forskjellen stor.

OECD 301 A testen som ble benyttet for å få tilstrekkelig mengde nedbrutt vann til analyse av bioakkumulerbare stoffer etter 28 døgn bionedbrytning, viste en DOC-reduksjon som var tilnærmet identisk (35 %) med det som ble oppnådd for hovedtesten for bestemmelse av nedbrytbarhet (OECD 301 F).

2.2.3 Toksisitet

Resultatene av toksisitetstestene er sammenfattet i tabell 5.

Tabell 4. Resultater av toksisitetstester for de to avløpsvann.

| Organismer | Responsparemeter | | Avløpsvann | |
|-------------------|------------------|------------------|------------|--------------|
| | | | Før nedbr. | Etter nedbr. |
| Sel.capricornutum | veksthastighet | EC ₅₀ | > 100 % | Ikke utført |
| Daphnia magna | immobilisering | EC ₅₀ | > 100 % | - |
| Ørret | dødelighet | LC ₅₀ | > 56 % | - |

Resultatene av toksisitetstestene viser at avløpsvannet ikke kan betraktes som giftig overfor de testede organismene. Det ble påvist signifikant veksthemming (EC₁₀) av algen *Selenastrum capricornutum* ved 38% avløpsvann, og ved 90% konsentrasjon var veksthemmingen ca. 40%.

Avløpsvannets farge kan imidlertid ha bidratt til veksthemmingen ved å redusere algenes tilgang til lys for fotosyntesen. For vannloppen *Daphnia magna* ble det ikke påvist noen dødelighet eller immobilisering, selv i ufortynnet avløpsvann.

Fisketesten ble utført med 56 % avløpsvann som høyeste konsentrasjon. Det ble ikke påvist dødelighet i denne testen.

2.2.4 Bioakkumulering

Resultatene fra de tynnsjikt-kromatografiske testene av potensielt bioakkumulerbare stoffer (PBS) i avløpsvannet før og etter nedbrytning er vist i tabell 5. Verdiene er korrigert for den fortynningsfaktor som ble benyttet ved nedbrytningstesting.

Gasskromatograf-analysen er semikvantitativ fordi responsen på den benyttede flammeionisasjonsdetektor kan variere mellom ulike organiske forbindelser. De oppgitte konsentrasjoner er derfor approksimative.

Tabell 5. Konsentrasjonen av PBS i prøvene før og etter 28 døgns bionedbrytning.

| Prøve | Kons. før TLC fraksjonering µg/l | Kons.fraksjon 1 ved applikasjon sone TCL µg/l | Kons.fraksjon 2 Log P _{OW} >5,7 µg/l | Kons.fraksjon 3 3,88 <Log P _{OW} <5,7 µg/l | Kons. fram. 4 Log P _{OW} <3,88 µg/l |
|-------------------|-------------------------------------|--|--|--|---|
| B343 | | | | | |
| Før nedbrytning | 30 | 2,7 | 14 | 6,0 | 13 |
| Etter nedbrytning | 20 | ikke detektert | 7,2 | ikke detektert | 0,6 |

I avløpsvannet før nedbrytning ble det funnet PBS i det bioakkumulerbare området beregnet til 16,7 µg/l for log P_{OW} > 5,7 (applikasjonen + fraksjon 2) og 6,0 µg/l for 3,88 <log P_{OW} <5,7 (fraksjon 3). Etter nedbrytning er verdiene i de samme fraksjonene henholdsvis 7,2 og ikke detekterbar. For PBS med log P_{OW} > 3,88 ble det oppnådd en eliminering på 68 % under nedbrytningen.

De verdier som ble funnet i dette avløpsvannet er vesentlig lavere enn den aksjonsgrense som Naturvårdsverket i Sverige praktiserer ved vurdering av utslippsbegrensninger (0,5 mg/l).

Naturvårdsverkets aksjonsgrense for PBS i vann etter nedbrytning (0,1 mg/l) er ca 13 ganger høyere enn det som ble påvist i dette avløpsvannet etter nedbrytning. PBS i dette avløpsvannet er meget lav, og i vesentlig grad bionedbrytbart.

3. DISKUSJON

Karakteriseringen viser at avløpsvann fra renseanlegget ved Norske Skog, Follum fabrikk inneholder organisk materiale hvor en del fraksjon nedbrytes relativt raskt, mens det resterende er stoffer som er tyngre biologisk nedbrytbare, som resultatet av nedbrytbarhetstesten viser.

Avløpsvannet er lite eller ikke akutt giftig overfor de testorganismer som ble benyttet ved denne karakteriseringen. På bakgrunn av denne observasjonen ble det besluttet at testing for akutt toksisitet etter bionedbrytning ikke hadde noen hensikt, og ble derfor sløytet.

Det er foretatt en beregning av utslipp av suspendert materiale, organisk stoff, og næringsstoffene nitrogen og fosfor basert på de utslippmengder som er oppgitt fra bedriften.

| m ³ /døgn | STS | COD _{Cr} | TOC | Nitrogen | Fosfor |
|----------------------|---------|-------------------|--------|----------|--------|
| 24,4 | 0,61 kg | 11 kg | 3,9 kg | 4,4 g | 12,2 g |

Avløpsvannets totale potensiale for å gi skadevirkninger i resipienten er en funksjon av toksisitet og utslippmengde. Som et uttrykk for dette brukes betegnelsen "Toxicity emission factor, TEF". For å beregne TEF konverteres først E(L)C₅₀-verdiene til en enhet hvor verdien er proporsjonal med toksisiteten. Denne enheten betegnes "Toxical units, TU og beregnes:

$$TU = 100/E(L)C_{50} \quad \text{hvor } E(L)C_{50} \text{ er oppgitt som vol. \% av avløpsvann.}$$

TEF-verdien beregnes så i henhold til:

$$TEF = TU * Q \quad \text{hvor } Q \text{ er utslippmengde angitt som m}^3/\text{time}$$

TEF-verdien er egnet for vurdering av ulike utslipps betydning i en resipient eller for sammenligning av utslipp fra ulike fabrikker innen en industrikategori. På grunn av det ikke ble påvist 50 % effekt på noen av testorganismene ved de høyeste konsentrasjoner som ble undersøkt kan eksakte EC₅₀ eller LC₅₀-verdier bare angis som "større enn høyeste testkonsentrasjon", dvs. >56% for fisk og >100% for alger og dafnier. Tilsvarende kan TEF bare beregnes som en maksimumsverdi som vist i tabell 7.

Tabell 7. Beregnede TEF-verdi for avløpsvannet.

| Avløpsvann | Organisme | TU | Q (m ³ /time) | TEF |
|---------------|-----------|------|-----------------------------|-------|
| Ukeblandprøve | Ørret | <1,8 | 1,01 | <1,82 |

VEDLEGG 1

Toksisitetstester med alger

TESTRAPPORT

Alger, veksthemmingstest

Selenastrum capricornutum

NIVA metode K4

Teststoff: Blandprøve 3-10.8.98
Kunde: Norske skog, Follum
Adresse: Postboks 220,
3501 Hønefoss

Lab. kode: B343
Prøve mottatt: 10.08-98

Testmetode: ISO 8692: 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: 18.08.98
Forbehandling av prøve: Prøven ble frosset ned ved mottak og tint i kjøleskap før teststart
Konsentrasjoner: 10, 18, 32, 56, 90 %
Test medium: ISO 8692
Inkuberingsutstyr: Gyngebord
Dyrkingsflasker: 100 ml ståkolber med 50 ml medium
Lys: Ca. 75 mE m² s⁻¹, kontinuerlig fra dagslys-type lysstoffrør
Temperatur: 20.7 – 21.2 °C
pH i kontroll Start : 7.6 Slutt: 8.0
pH i høyeste konsentrasjon Start : 8.3 Slutt: 8.8
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 | % | > 100 | - | 38 | 33 - 43 | 32 |

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

** NOEC = Høyeste testede konsentrasjon uten signifikant effekt

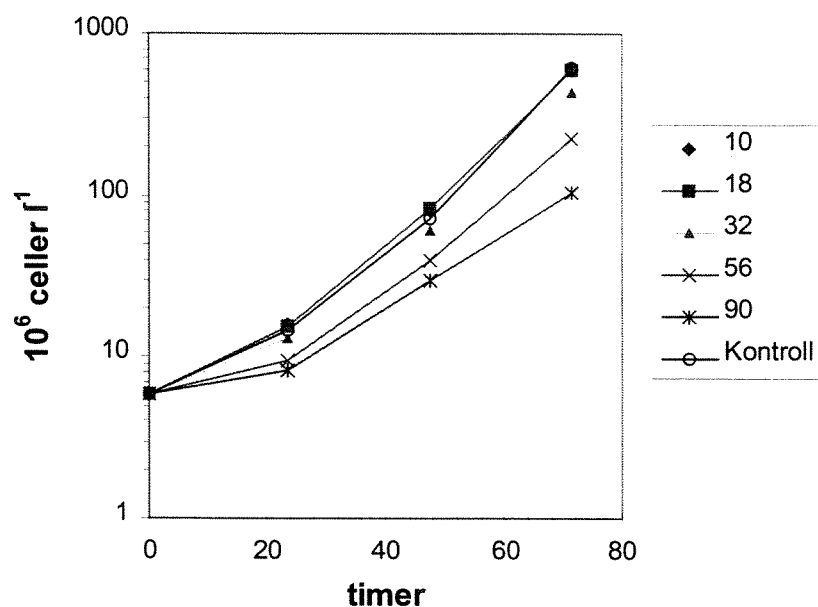


Fig. 1. Vekstkurver for *Selenastrum capricornutum* i ulike konsentrasjoner av blandprøve 3-10.8.98

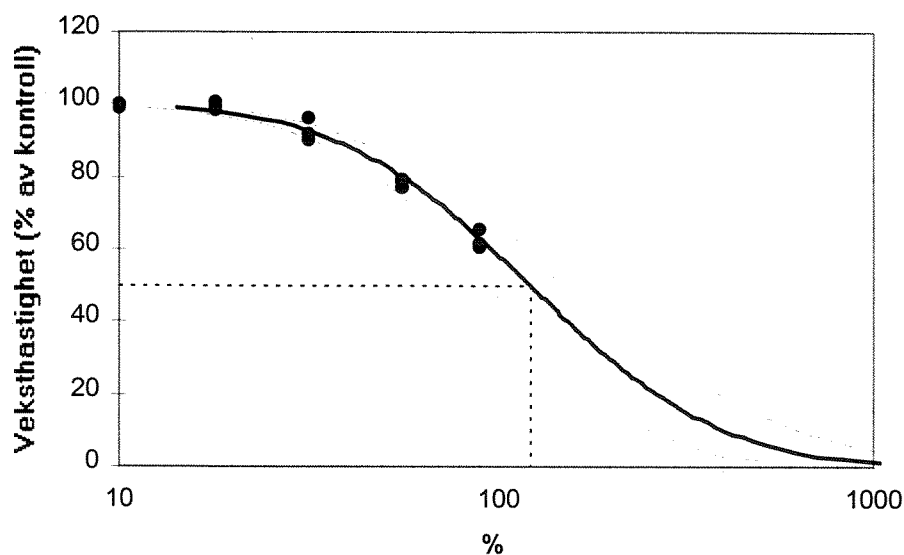



Fig. 2. Effekt av blandprøve 3-10.8.98 på veksthastigheten til *Selenastrum capricornutum*.

Utført av: Randi Romstad Testansvarlig:


Torsten Källqvist

Oslo 5.10.98

Referenser:

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

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

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

TEST: K4
 TESTSTOFF: Blandprøve 3-10.8
 TESTALGE: *Selenastrum capricornutum*
 INOKULUM: 5,8 mill. celler/l

Dato: 18.8.98
 Lab. kode: B343
 Medium: ISO

| | Timer: | Dag 1 | Dag 2 | Dag 3 | Areal | Areal% | V.hast. | V.hast.% |
|----------|--------|----------------|----------------|-----------------|-------|--------|---------|----------|
| Kons. | % | 23,5 mill/l | 47,5 mill/l | 71,5 mill./l | | | | |
| 10 | " | 16 | 78 | 580 | 8865 | 97 | 1,55 | 99 |
| 10 | " | 16 | 83 | 614 | 9393 | 103 | 1,56 | 100 |
| 10 | " | 16 | 82 | 599 | 9189 | 101 | 1,56 | 100 |
| 18 | " | 16 | 79 | 564 | 8697 | 95 | 1,54 | 98 |
| 18 | " | 15 | 82 | 597 | 9142 | 100 | 1,56 | 100 |
| 18 | " | 15 | 89 | 627 | 9670 | 106 | 1,57 | 101 |
| 32 | " | 13 | 59 | 390 | 6058 | 66 | 1,41 | 90 |
| 32 | " | 13 | 61 | 414 | 6394 | 70 | 1,43 | 92 |
| 32 | " | 13 | 62 | 509 | 7558 | 83 | 1,50 | 96 |
| 56 | " | 10 | 40 | 212 | 3395 | 37 | 1,21 | 77 |
| 56 | " | 9 | 40 | 224 | 3522 | 39 | 1,23 | 78 |
| 56 | " | 10 | 40 | 235 | 3659 | 40 | 1,24 | 80 |
| 90 | " | 8,1 | 28 | 97 | 1682 | 18 | 0,95 | 61 |
| 90 | " | 7,7 | 31 | 101 | 1792 | 20 | 0,96 | 61 |
| 90 | " | 8,7 | 31 | 121 | 2056 | 23 | 1,02 | 65 |
| | | | | | | | | |
| | | | | | | | | |
| Kontroll | | 18 | 82 | 756 | 11121 | 122 | 1,63 | 105 |
| | | 12 | 63 | 514 | 7618 | 84 | 1,51 | 96 |
| | | 13 | 70 | 591 | 8734 | 96 | 1,55 | 99 |
| | | 15 | 72 | 588 | 8794 | 96 | 1,55 | 99 |
| | | 15 | 73 | 596 | 8914 | 98 | 1,55 | 100 |
| | | 15 | 79 | 638 | 9562 | 105 | 1,58 | 101 |

MIDDELVERDIER

%

| | | | | | | | | |
|-----------|---|-------|-------|--------|-------|--------|------|--------|
| 10,00 Mv: | | 16,00 | 81,00 | 597,67 | 9149 | 100,28 | 1,56 | 99,57 |
| St. d. | | 0,00 | 2,16 | 13,91 | 217 | 2,38 | 0,01 | 0,50 |
| 18,00 Mv. | | 15,33 | 83,33 | 596,00 | 9170 | 100,50 | 1,55 | 99,49 |
| St. d. | | 0,47 | 4,19 | 25,73 | 397 | 4,36 | 0,01 | 0,93 |
| 32,00 Mv. | | 13,00 | 60,67 | 437,67 | 6670 | 73,11 | 1,45 | 92,74 |
| St. d. | | 0,00 | 1,25 | 51,38 | 643 | 7,04 | 0,04 | 2,45 |
| 56,00 Mv. | | 9,60 | 40,00 | 223,67 | 3525 | 38,64 | 1,23 | 78,44 |
| St. d. | | 0,29 | 0,00 | 9,39 | 108 | 1,18 | 0,01 | 0,90 |
| 90,00 Mv. | | 8,17 | 30,00 | 106,33 | 1843 | 20,20 | 0,97 | 62,38 |
| St. d. | | 0,41 | 1,41 | 10,50 | 157 | 1,72 | 0,03 | 2,06 |
| | | | | | | | | |
| Kontroll | Mv. | 14,67 | 73,17 | 613,83 | 9124 | 100,00 | 1,56 | 100,00 |
| | St. d. | 1,89 | 6,15 | 73,34 | 1061 | 11,63 | 0,04 | 2,48 |
| | Variasjonskoeffisient i kontroller (%): | | | | 11,63 | | 2,48 | |

VEDLEGG 2

Toksisitetstester med dafnier

Teststoff: Blandprøve 3 – 10.8.98
Kunde: Norske skog, Follum
Adresse: Postboks 220,
3501 Hønefoss

Lab. kode: B343
Prøve mottatt: 10.08.98

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 næringsssaltløsning. Alder ved teststart < 24 timer.

Testperiode 18.08 – 20.09.98

Forbehandling av prøve Blandprøven som ble oppbevart frosset ble tint over natten i kjøleskap før teststart.

Fortynningsmedium ISO

Testkonsentrasjoner 32, 56, 100 %

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 – 19.7 °C

pH i kontroll Start: 7.8 Slutt: 7.9

pH i høyeste kons. Start: 8.0 Slutt: 8.1

Oksygenmetning, 48 t Kontroll: 8.53 ppm kons.: 8.26 ppm

Beregning av EC₅₀ *

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 | % | > 100 | - | > 100 | > 100 | - | > 100 |

Kommentarer: det ble ikke registrert noen effekt av avløpsvannet på forsøksdyrene.


*EC₅₀ = Den konsentrasjon som gir 50% immobilisering av forsøksdyrene.

| Konsentrasjon | Antall dyr | Immobiliserte 24 tim. | Immobiliserte 48 tim. |
|---------------|------------|--------------------------|--------------------------|
| 32 % | 20 | 0 | 0 |
| 56 % | 20 | 0 | 0 |
| 100 % | 22 | 0 | 0 |
| kontroll | 21 | 0 | 0 |

Observert immobiliserte *Daphnia magna* etter 24 og 48 timer i kontroller og ulike konsentrasjoner av blandprøve 3-10.8.98.

Oslo, 20.8.98

Utført av: Randi Romstad Testansvarlig:



Torsten Källqvist

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

TESTRAPPORT

Akutt toksisitet - fisk

Salmo trutta

NIVA metode K15

Teststoff: Blandprøve 3 – 10.08.98
Kunde: Norske Skog, Follum
Postboks 220
3501 Hønefoss

Lab. kode: B343
Motatt: 10.08.99

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 (0,86 g/l) i overensstemmelse med fiskebelastning på <1.0 g/l anbefalt i OECD 203.

Testorganisme

Årsyngel (0+) av ørret (*Salmo trutta*), med middelvekt 1,7 g og middellengde 5,6 cm. Fisken var hentet fra OFAs oppdrettsanlegg i Sørkedalen 2 uker før testoppstart. Fisk ble ikke foret innen 1 døgn før teststart. Testen ble utført som en "limit test" både fordi man antok at avløpsvannet var lite giftig og fordi det var knapt med testmateriale.

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 21 september 1998
Dato for oppstart: 6 oktober 1998
Test konsentrasjoner: 56 % løsning av "Blandprøve 3 – Norske Skog"
Tillagning av løsninger: Test avløpsvannet ble målt opp i målesylindere og fortynnet i målekolbe
Test Medium: Fortynningsvann fra Maridalsvannet.
Test system: 36 l glass akvarier fylt med 20 l testløsning

Test betingelser

Lys: 16 timer lys 8 timer mørke
Temperatur: Målt daglig i kontroll akvariet. Maksimum temperatur var 13,3 °C og minimum var 12,4 °C.
pH: Målt før og etter vannskift hver dag. Kontroll start 6,5, slutt 6,6, Høyeste konsentrasjon start 7,8 slutt 8,2
Oksygen: Ikke målt men antatt å være ~100 % fordi alle kar ble luftet kontinuerlig.
Beregning av LC50: Kumulativ prosent mortalitet er plottet mot logaritmen til konsentrasjonen. LC50 er grafisk bestemt.
NOEC: Høyeste konsentrasjon uten toksiske effekter.

Utførelse

Forsøket ble utført i glassakvarier med 20 l vann og 10 fisk i hver konsentrasjon av avløpsvann. Konsentrasjoner testet var 56 % avløpsvann "blandprøve 3", avløpsvannet hadde et grumset utseende, med karakteristisk treforedlings lukt. Det var mye partikler i vannet. Avløpsvannet ble målt opp i målesylindere 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. 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 12,4-13,3 °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. Det ble ikke observert død fisk eller toksiske symptomer ved 56 %. NOEC er basert på høyeste konsentrasjon uten observerbare toksiske effekter. Et sammendrag av resultatene er gjengitt i tabell 3.

Avvik fra protokoll

Det var ingen avvik fra protokollen.

Tabell 2. Kumulativt antall døde fisk (% i parentes) ved forskjellig eksponeringstid og konsentrasjon av "Blandprøve 3 – Norske Skog". LC50 og NOEC ved ulike tidspunkt er angitt nederst i tabellen.

| Konsentrasjon % | Timer | | | |
|--------------------|-------|-------|-------|-------|
| | 24 | 48 | 72 | 96 |
| 56 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| LC50 | >56 % | >56 % | >56 % | >56 % |
| NOEC | >56 % | >56 % | >56 % | >56 % |


Testresultatene for "Blandprøve 3 – Norske Skog" er summert opp i tabell 3.

Tabell 3. Sammendrag av resultater for toksisitets test ("limit test") med "Blandprøve 3 – Norske Skog" på fisk (*Salmo trutta*).

| | Observasjons tidspunkt | | | |
|----------|------------------------|----------|----------|----------|
| | 24 timer | 48 timer | 72 timer | 96 timer |
| LC50 (%) | >56 | >56 | >56 | >56 |
| NOEC (%) | >56 | >56 | >56 | >56 |

Testen utført av: August Tobiesen

Testansvarlig:



August Tobiesen

VEDLEGG 4

Nedbrytbarhetstester

Norsk
Institutt
for
Vannforskning

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

Nedbrytbarhet

OECD 301F

NIVA metode L3

Test stoff: Blandprøve 3.8 – 10.8 **Lab. kode:** B 343/1

Kunde: Norske Skog, Follum
Postboks 220, 3501 Hønefoss

Prøve mottatt: 10.08.98 **Lagringsbetingelser:** Kjølerom 2-4°C.

Test periode: 14. august til 11. september 1998.

Test betingelser:

Apparatur: Manometrisk respirometer, WTW 2001

**Nærings-
løsning:** OECD 301 Standard mineral saltløsninger. Ammonia: 1.3 mg N/l i preparert test-løsning.

Inokulum: Mikroorganismer fra laboratorieprodusert biologisk aktivt slam (Husmann unit) dyrket i OECD syntetisk kloakk, supplert med kommunalt kloakkvann dosert over 4 døgn før start av test. Slammet ble sentrifugert (2500 G i 10 min.) og suspendert i næringsmedium for "vasking" av løste stoffer. Etter gjentatt sentrifugering ble slammet igjen suspendert i næringsmedium til 7,36 g/l STS.
Inokulumkonsentrasjon i testmediet: 30 mg/l STS. Antall bakterier: $2,65 \cdot 10^7$ CFU/l.

pH: Start 7,6 Slutt: 7,2

Referanse: Anilin, 20 mg C/l. Lag-fase: 3 døgn.

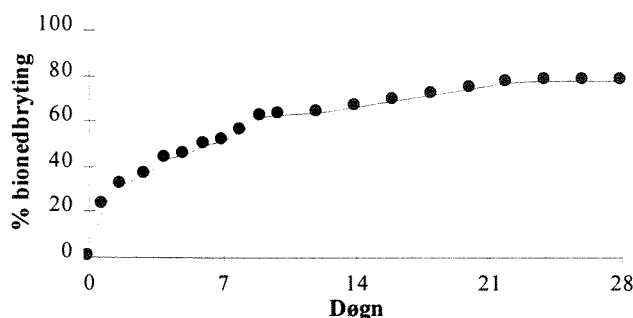
**Giftighets-
kontroll:** Anilin, 20 mg C/l tilsatt ved 1 : 10 fortyning av avløpsvannet.

**Konsentrasjon
av testprøve:** Testvannet ble fortynt 1:10 i næringsmedium. 2 testflasker ble benyttet for bestemmelse av biokjemisk oksygenforbruk (BOD). De samme duplikater ble anvendt for bestemmelse av løst organisk karbon (DOC).
Kjemisk oksygenforbruk (COD_{Cr}) ble analysert ved fortyning 1:2.

Resultater:

| Parameter | COD_{Cr} | BOD_{28} | DOC_0 | DOC_{28} | DOC-fjerning |
|-------------------|------------|------------|----------|------------|--------------|
| Beregnet i prøven | 454 mg/l | 352 mg/l | 133 mg/l | 90 mg/l | 32 % |

Bionedbrytningskurve:



Bionedbrytbarhet:

$$\frac{BOD_{28}(\text{mg/l}) \cdot 100}{COD_{Cr}(\text{mg/l})} = 77 \%$$

ANALYSER OG RESULTATER:
Teststoff: Blandprøve 3.8 – 10.8

Lab. kode: B 343/1

Løst organisk karbon (DOC) mg/l:

| Medium | Flask code | Start values | 28 days |
|---|------------|--------------|--------------|
| Inoculum | C1 | 0.7 | 1.3 |
| " | C2 | 0.9 | 1.4 |
| " | Cmv. | 0.80 | 1.35 |
| Test sample. (Fl. 26) | A1 | 14.2 | 10.8 |
| " (Fl. 27) | A2 | 14 | 9.9 |
| " | Amv. | 14.10 | 10.35 |
| Korrigert (Amv.-Cmv.) | | 13.30 | 9.00 |
| DOC-reduction after 28 days of incubation (%) | | | 32 |

Kjemisk oksygenforbruk:

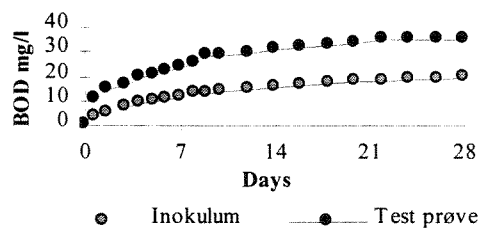
| Konsentrasjon i testprøve | Replikater | COD _{Cr} mg/l |
|---------------------------|------------|------------------------|
| 1:2 fortynning | 1 | 225 |

Biokjemisk oksygen forbruk: mg/l

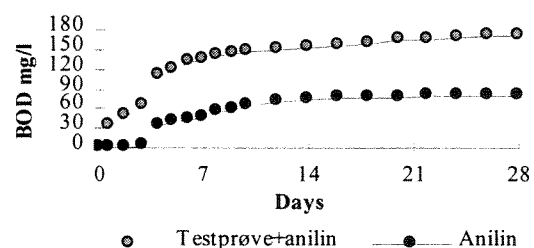
| Antall dager | 5 | 7 | 14 | 21 | 28 | BOD ₂₈ /COD |
|----------------|------|------|------|------|------|------------------------|
| Repl. 1 (1:10) | 19,4 | 23,0 | 30,6 | 32,6 | 33,6 | 0,74 |
| Repl. 2 (1:10) | 23,5 | 25,4 | 34,3 | 37,9 | 38,4 | 0,85 |
| Repl. 3 (1:10) | 18,5 | 21,5 | 28,5 | 32,3 | 33,6 | 0,74 |

 Bionedbrytning av referansetoffet (anilin) etter 14 døgn (BOD₁₄ · 100/ ThOD): = 91 %

Testprøve og blank, snittverdier:



Toksisitets kontroll: Testet ved 1:1 0 fortynning


Test prinsipp

Testprøven inkuberes i en bufret mineral næringsmedium 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.

Test prøve: Blandprøve 3.8 – 10.8**Lab. kode: B 343/1**

BOD verdiene blir så korrigert for oksygenforbruket som skyldes nitrifikasjon, basert på analyser av nitrat ved start og ved endt inkubasjon.

Graden av bionedbrytning er uttrykt som biokjemisk oksygen forbruk (BOD) målt ved endt inkubasjon (normalt 28 døgn) som prosent av kjemisk oksygenforbruk (COD). I tillegg ble det analysert for løst organisk karbon (DOC) ved start og slutt for å beregne prosentlig DOC reduksjon.

Preparering

200 ml avløpsvann ble fortynnet med næringsmedium til ca. 1900 ml i målekolbe. Standard mineral saltløsninger ble tilsatt får å oppnå full styrke i testmediet (for testprøvens andel).

Testmediet ble kontrollert med hensyn til pH. Deretter tilsatt 8,2 ml inokulumsuspensjon, og etterfylt med næringsmedium til 2000 ml merket. Etter omhyggelig blanding av testmediet ble porsjoner 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 2500 G i ti minutter og supernatanten ble fjernet. Det partikulære materialet ble resuspendert i næringsmedium og sentrifugert på nytt. Etter gjentatt resuspending i næringsmedium ble slammet gjort klart til bruk ved en konsentrasjon på 7.36 g/l STS. 4,1 ml suspensjon ble brukt per liter testmedium.

Antall heterotrofe bakterier i inokulum ble bestemt etter NS 4791, innstøpningsteknikk. Agarplatene ble inkubert i 3 døgn ved 20 ± 1 °C, før telling.

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 avløpsvann ved 1:10 fortynning 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.

Kjemisk oksygenforbruk (COD_{Cr})

Kjemisk oksygenforbruk (COD_{Cr}) ble analysert ved 1:2 fortynnet prøve i destillert vann. Prøvene ble konserverte med 1 ml 4M svovelsyre / 100 ml, og lagret ved 2-4 °C før analyse.

Test prøve: Blandprøve 3.8 – 10.8

Lab. kode: B 343/1

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).

Det anvendte testmedium ble filtrert gjennom membranfilter (0,45 µm porestørrelse) ved start og ved endt forsøk. Prøvene ble konserverert med 4 M H₂SO₄, 1 ml/100 ml prøve, og lagret ved 2-4 °C før analyse.


Nitrat

NO₃-N konsentrasjon ble analysert i henhold til NS 4745 (Autoanalyser metode). Nitrat i testløsningen (ved start og endt forsøk) 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.

Oslo, den 26. oktober 1998

Testet av: Harry Efraimsen

Forskningsleder:



Torsten Källqvist

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_{C7}). 2. utgave 1991.
5. NS 4745 Bestemmelse av summen av nitritt- og nitrat-nitrogen Spectrophotometric method. 2. utgave 1991.
6. NS 4791 Heterotrofe bakterier. Innstøpningsteknikk 1. utgave 1990

Norsk
 Institutt
 for
 Vannforskning

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

Nedbrytbarhet
OECD 301A
 NIVA metode L5

Test stoff: Blandprøve 3.8 – 10.8 **Lab. kode:** B 343/1
Kunde: Norske Skog, Follum
 Postboks 220, 3501 Hønefoss
Prøve mottatt: 10.08.98 **Lagringsbetingelser:** Kjølerom 2-4°C.
Test periode: 14. august til 11. september 1998.

Test betingelser:

Apparatur: 5 l glassflasker med stor åpning, magnetrørverk og 8 cm teflonbelagte magnetstaver
**Nærings-
 løsning:** OECD 301 Standard mineral saltløsninger. Ammonia: 1.3 mg N/l i preparert test-
 løsning.
Inokulum: Mikroorganismer fra laboratorieprodusert biologisk aktivt slam (Husmann unit)
 dyrket i OECD syntetisk kloakk, supplert med kommunalt kloakkvann dosert over 4
 døgn før start av test. Slammet ble sentrifugert (2500 G i 10 min.) og suspendert i
 næringsmedium for "vasking" av løste stoffer. Etter gjentatt sentrifugering ble
 slammet igjen suspendert i næringsmedium til 7,36 g/l STS.
 Inokulumkonsentrasjon i testmediet: 30 mg/l STS. Antall bakterier: $2,65 \cdot 10^7$ CFU/l.

pH: Start 7,6 Slutt: 7,9
Referanse: Anilin, 20 mg C/l. Lag-fase: 3 døgn.
**Giftighets-
 kontroll:** Ikke utført ved anvendt testkonsentrasjon.

Konsentrasjon av testprøve: Testvannet ble fortynnet 1:3 i næringsmedium. 2 testflasker ble benyttet for
 bestemmelse av løst organisk karbon (DOC).

Resultater:

| Parameter | DOC ₀ | DOC ₂₈ | DOC-fjerning |
|-------------------|------------------|-------------------|--------------|
| Beregnet i prøven | 122 mg/l | 79,2 mg/l | 35 % |

Oslo, den 14. oktober 1998

Testet av: Harry Efraimsen

Forskningsleder:



Torsten Källqvist

ANALYSER OG RESULTATER:
Teststoff: Blandprøve 3.8 – 10.8
Lab. kode: B 343/1

Løst organisk karbon (DOC) mg/l:

| Medium | Flaske | Startverdi | 28 døgn |
|---|--------|--------------|--------------|
| Inokulum | C1 | 1.1 | 1.8 |
| " | C2 | 1.1 | 1.8 |
| " | Cmv. | 1.10 | 1.80 |
| Teststoff. (Fl. a) | A1 | 41.6 | 29.4 |
| " (Fl.b) | A2 | 41.6 | 27 |
| " | Amv. | 41.60 | 28.20 |
| Korrigert (Amv-Cmv) | | 40.50 | 26.40 |
| DOC-reduksjon etter 28 døgn nedbrytning (%) | | | 35 |

Bionedbrytning av referankestoffet (anilin) etter 14 døgn ($BOD_{14} \cdot 100 / ThOD$): = 91 %
 (Målt som oksygenforbruk i respirometertest, OECD 301F)

Test prinsipp

Testprøven ble inkubert i et bufret mineral næringsløsning over normalt 28 døgn ved 20 ± 1 °C. Testen ble utført i 5 liters glass flasker hvor testmediet holdes under kontinuerlig omrøring ved hjelp av en magnetstav og magnetrørverk. Flaskeåpningen ble holdt tildekket med aluminiumsfolie for å redusere fordampningen. Væsketap ved fordampning ble erstattet med destillert vann umiddelbart før testen ble stoppet (basert på veiing). Løst organisk karbon (DOC) ble analysert ved start og ved endt testperiode.

Graden av bionedbrytning er uttrykt som reduksjon i DOC målt ved start og etter endt inkubasjon (normalt 28 døgn).

Preparering

500 ml avløpsvann ble blandet med ca. 900 ml næringsmedium og tilsatt mineralløsninger som kompensasjon for avløpsvannets andel. Etter pH kontroll ble 6,1 ml inokulumsuspensjon tilsatt. Til slutt ble det etterfylt med næringsmedium til 1,5 liter testporsjon. En tilsvarende parallellørpve ble preparert. En 8 cm lang magnetstav ble lagt i hver testflaske før de ble plassert på magnetrørverk for å holde kontinuerlig omrøring å testmediet under inkubasjonsperioden. Ca 200 ml testmedium ble tatt ut fra hver flaske for DOC-analyser ved start og ved endt inkubasjon.

Test prøve: Blandprøve 3.8 – 10.8

Lab. kode: B 343/1

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 2500 G i ti minutter og supernatanten ble fjernet. Det partikulære materialet ble resuspendert i næringsmedium og sentrifugert på nytt. Etter gjentatt resuspending i næringsmedium ble slammet gjort klart til bruk ved en konsentrasjon på 7.36 g/l STS. 4,1 ml suspensjon ble brukt per liter testmedium.

Antall heterotrofe bakterier i inokulum ble bestemt etter NS 4791, innstøpningsteknikk. Agarplatene ble inkubert i 3 døgn ved 20 ± 1 °C, før telling.

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 avløpsvann ved 1:10 fortykning i næringssaltløsning ble anvendt for påvisning av giftighet. Det ble ikke påvist hemningseffekt ved anvendt testkonsentrasjon.

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 analyser).

Det anvendte testmedium ble filtrert gjennom membranfilter (0,45 µm porestørrelse) ved start og ved endt forsøk. Prøvene ble konserverte med 4 M H₂SO₄, 1 ml/100 ml prøve, og lagret ved 2-4 °C før analyse.

REFERANSER:

1. OECD Guideline for testing of chemicals. 301F Manometric Respirometry. Adopted July 1992.
2. NS-EN ISO 7827 Vurdering av fullstendig aerob biologisk nedbrytbarhet av organiske forbindelser i vann. Metode ved analyse av løst organisk karbon. ISO: 1994.
3. NS-ISO 8245 Retningslinjer for bestemmelse av totalt organisk karbon (TOC) Første utgave 1991.
4. NS 4791 Heterotrofe bakterier. Innstøpningsteknikk 1. utgave 1990

VEDLEGG 5

Bioakkumuleringstester

Norsk
 Institutt
 for
 Vannforskning

P. boks 173 Kjelsås
 0411 Oslo
 Tel. 22 18 51 00
 Fax. 22 18 52 00

Bioakkumulering TLC-GC/FID metode

Oppdragsgiver: Follum Norske skog, Hønefoss

Test komponent: Avløpsvann
Prøve mottatt: 10.08.98
Testperiode: sept/okt 98

Lab kode: B343
Lagringsbetingelser: Kjølerom

Bestemmelse av potensielt bioakkumulerbart materiale i vannprøve før og etter nedbrytbarhetstest.

Potensielt bioakkumulerbart materiale skulle bestemmes i vannprøver før og etter nedbrytbarhetstest i surt ekstrakt (tynnsljikt-kromatografi og fingerprint på gass kromatograf med flammeionisasjonsdetektor).

Analysemetode:

Prøvene er ekstrahert ved pH 2 og TLC fraksjonert i fire soner, applikasjonssonen, $P_{OW} > 10^{5.7}$, $10^{3.88} < P_{OW} < 10^{5.7}$ og $P_{OW} < 10^{3.88}$. Resultatene av fingerprintanalysen er gitt i tabellen under.

Prøven før nedbrytning er testet ufortynnet mens prøven etter nedbrytning er testet i en fortykning på 1:3.

I prøven før nedbrytning ble det funnet komponenter i det bioakkumulerbare området beregnet til 16.7 µg/L for $\log P_{OW} > 5.7$ (applikasjonssonen + fraksjon 2) og 6.0 µg/L for $3.88 < \log P_{OW} < 5.7$ (fraksjon 3). I fraksjonen med $\log P_{OW} < 3.88$ ble innholdet beregnet til 13 µg/L. I den samme prøven etter nedbrytning ble det funnet komponenter i det bioakkumulerbare området beregnet til 7.2 µg/L for $\log P_{OW} > 5.7$ og i fraksjonen med $\log P_{OW} < 3.88$ ble innholdet beregnet til 0.6 µg/L. Det ble ikke funnet komponenter i hverken applikasjonssonen eller i fraksjonen med $3.88 < \log P_{OW} < 5.7$.

| Prøve | Kons. før TLC fraksjonering µg/L | Kons. applikasjons- sone µg/L | Kons. frak. 2 log $P_{OW} > 5.7$ µg/L | Kons. frak. 3 3.88 < log $P_{OW} < 5.7$ µg/L | Kons. frak. 4 log $P_{OW} < 3.88$ µg/L |
|----------------------------|---|--|---|---|--|
| B 343 Før nedbrytning | 30 | 2.7 | 14 | 6.0 | 13 |
| B 343 Etter nedbrytning | 20 | i.d.* | 7.2 | i.d. | 0.6 |

* i.d.= ikke detektert

NIVA 23/10/98

Norunn Følsvik

Norunn Følsvik
 Forsker

Vedlegg

METODE FOR BESTEMMELSE AV POTENSIELT BIOAKKUMULERBARE SUBSTANSER.

I denne bestemmelsen er det testet på vannprøver før og etter nedbrytbarhetstest. pH på vannprøvene ble justert til ca. 2 med konsentrert svovelsyre og deretter ekstrahert med 2 x 10 ml heksan. Emulsjon ble fjernet ved utsalting med natrium klorid. Ekstraktene ble kombinert og volumet justert til 2.0 ml. Ekstraktet ble analysert gasskromatografisk og videre fraksjonert på tynnsjikt i tre fraksjoner:

Fraksjon 1: Applikasjonsone
Fraksjon 2: $P_{ow} < 10^{3.7}$
Fraksjon 3: $10^{3.8} < P_{ow} < 10^{5.7}$

Lipofile eller potensielt bioakkumulerbare organiske forbindelser ble bestemt ved tynnsjiktskromatografi av heksan ekstrakt av en vannprøve.

Fraksjonene ble skrapet av tynnsjiktsplaten, tilsatt indre standard og ekstrahert med heksan 2 ganger. Hver av ekstraktene ble analysert med gasskromatografi med flammeionisasjonsdetektor, GC/FID. Arealet til de enkelte toppene ble relatert til en ytre eller indre standard som ga et mål for mengden organisk kromatograferbare forbindelser. Med kromatograferbare forbindelser menes i dette tilfellet organiske substanser med en molekylvekt opp til ca 500, som kan analyseres gasskromatografisk. Ved beregning ble det antatt at de detekterte forbindelsene har samme respons som den indre eller ytre standarden. Dette er en grov tilnærming, da erfaring har vist at responsen på en FID for ulike organiske forbindelser kan variere med opptil 50 %. Dette betyr at metoden må betraktes som semi kvantitativ. Blindprøve er kjørt parallelt med prøvene.

Testbetingelser ved GC analysen:

Kappilærkolonne, Rtx 5
l = 30 m, i.d. = 0.25 mm

Program:

Starttemperatur 60 °C, henstand 2 min
Oppvarmingshastighet 5 °C/min
Sluttemperatur 280 °C, henstand 8 min.
Ytre standard n-C₂₄H₅₀
Indre standard n-C₁₄H₃₀

Referanse: Renberg, L og A-C Rosén-Olofsson: Karakterisering av potensielt bioakkumulerbare substanser i industrielle avloppsvatten. Statens naturvårdsverk, Sverige, rapport 82-03.

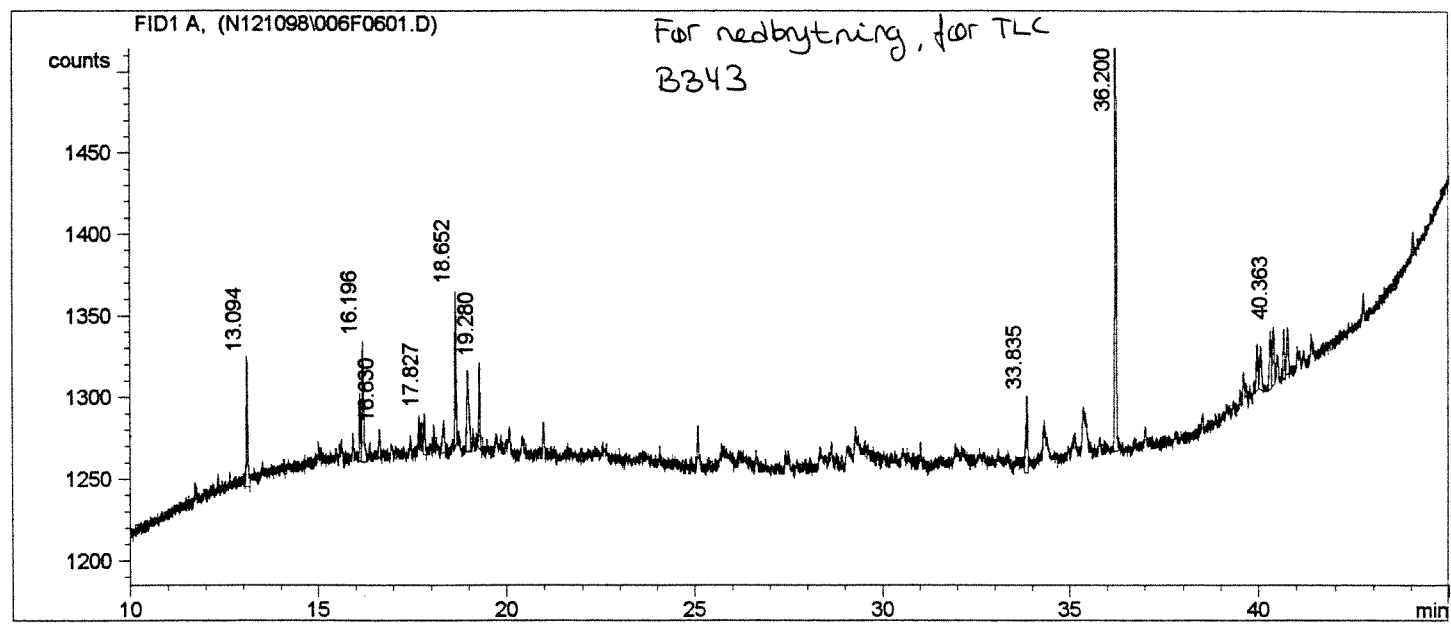
Sample Name: f0r, 200 µL

```

=====
Injection Date : 12-Oct-98, 19:51:03      Seq Line : 6
Sample Name    : f0r, 200 µL             Vial No.  : 6
Acq Operator   : nof                     Inj. No.   : 1
                                           Inj. Vol.  : -
    
```

```

Acq. Method    : BIOAKK.M
Analysis Method : C:\HPCHEM\2\METHODS\BIOAKK.M
Last Changed   : Thu, 22. Oct. 1998, 04:31:58 pm
                  (modified after loading)
    
```



=====
 Customized Report: bioakk
 =====

```

Sorted By Signal
Calib. Data Modified : Fri, 9. Oct. 1998, 10:18:28 am
Dilution             : 1.000000
Uncalibrated Peaks   : not reported
    
```

Signal Description : FID1 A,

| # | RT (min) | Height | Symmetry |
|----|----------|---------|----------|
| 1 | 0.000 | 0.000 | 0.000 |
| 2 | 13.094 | 78.767 | 0.808 |
| 3 | 16.112 | 41.648 | 0.850 |
| 4 | 16.196 | 74.241 | 0.745 |
| 5 | 16.630 | 18.233 | 0.819 |
| 6 | 17.756 | 17.722 | 4.076 |
| 7 | 17.827 | 25.383 | 0.695 |
| 8 | 18.073 | 17.612 | 0.841 |
| 9 | 18.337 | 20.487 | 1.611 |
| 10 | 18.652 | 96.893 | 0.918 |
| 11 | 18.968 | 50.711 | 0.438 |
| 12 | 19.280 | 52.671 | 0.844 |
| 13 | 33.835 | 47.586 | 1.038 |
| 14 | 36.200 | 490.582 | 1.002 |
| 15 | 39.935 | 29.066 | 1.269 |

| # | RT (min) | Height | Symmetry |
|----|----------|--------|----------|
| 16 | 40.030 | 27.373 | 1.032 |
| 17 | 40.277 | 37.194 | 0.719 |
| 18 | 40.363 | 37.131 | 0.997 |
| 19 | 40.632 | 31.865 | 1.084 |
| 20 | 40.733 | 30.072 | 1.063 |

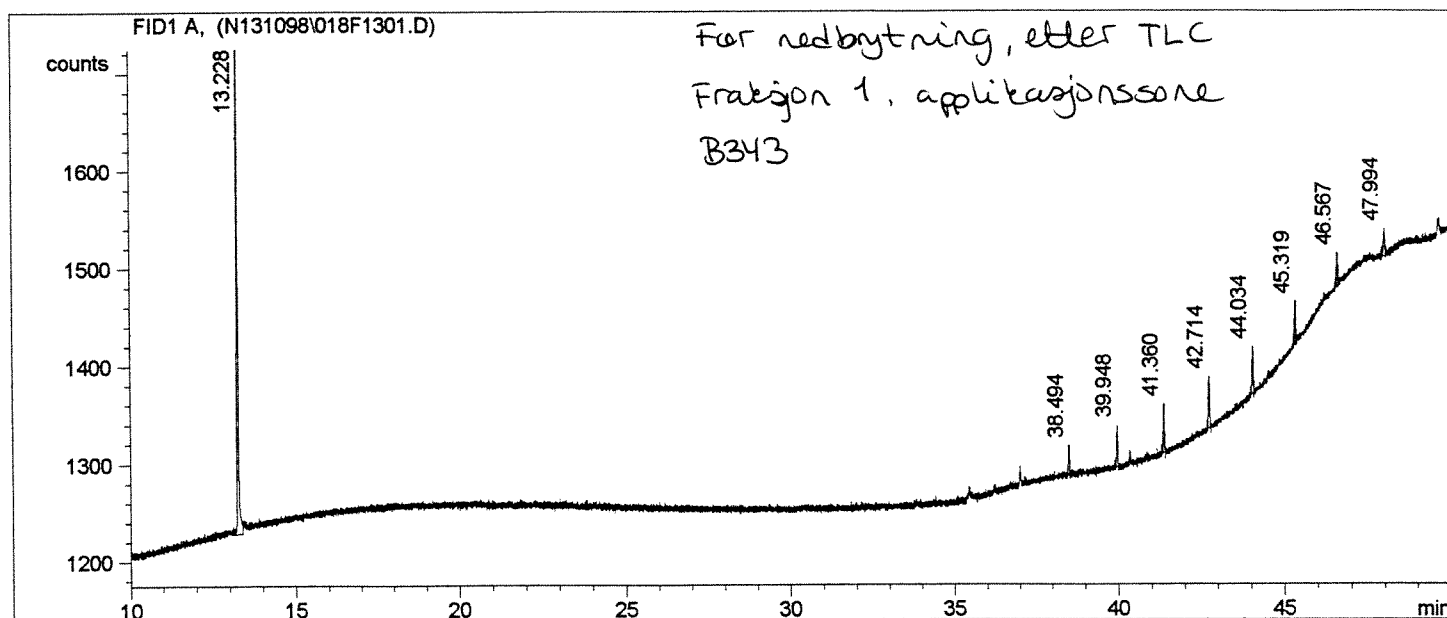
Totals:

*** End of Report ***

Injection Date : Wed, 14. Oct. 1998
 Sample Name : 1 før
 Acq Operator : nof

Seq Line : 13
 Vial No. : 18
 Inj. No. : 1
 Inj. Vol. : -

Acq. Method : BIOAKK.M
 Analysis Method : C:\HPCHEM\2\METHODS\BIOAKK.M
 Last Changed : Thu, 22. Oct. 1998, 04:31:58 pm
 (modified after loading)



Customized Report: bioakk

Sorted By Signal

Calib. Data Modified : Fri, 9. Oct. 1998, 10:18:28 am
 Dilution : 1.000000
 Uncalibrated Peaks : not reported

Signal Description : FID1 A,

| # | RT (min) | Height | Symmetry |
|----|----------|---------|----------|
| 1 | 0.000 | 0.000 | 0.000 |
| 2 | 13.228 | 578.359 | 0.709 |
| 3 | 38.494 | 31.388 | 0.817 |
| 4 | 39.948 | 44.516 | 0.818 |
| 5 | 41.360 | 51.205 | 1.197 |
| 6 | 42.714 | 54.923 | 0.582 |
| 7 | 44.034 | 49.899 | 0.761 |
| 8 | 45.319 | 44.170 | 1.349 |
| 9 | 46.567 | 35.545 | 0.489 |
| 10 | 47.994 | 29.402 | 1.164 |

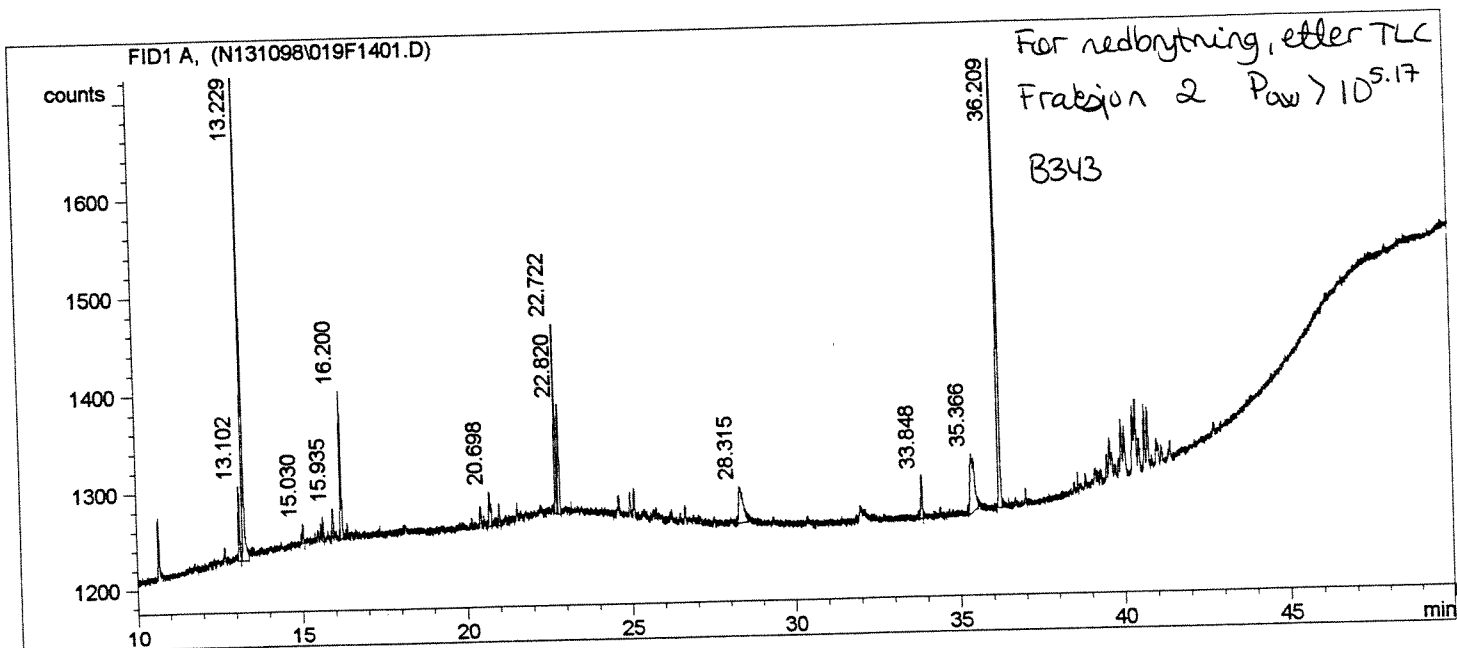
Totals:

*** End of Report ***

Injection Date : Wed, 14. Oct. 1998
 Sample Name : 2 før
 Acq Operator : nof

Seq Line : 14
 Vial No. : 19
 Inj. No. : 1
 Inj. Vol. : -

Acq. Method : BIOAKK.M
 Analysis Method : C:\HPCHEM\2\METHODS\BIOAKK.M
 Last Changed : Thu, 22. Oct. 1998, 04:31:58 pm
 (modified after loading)



Customized Report: bioakk

Sorted By Signal
 Calib. Data Modified : Fri, 9. Oct. 1998, 10:18:28 am
 Dilution : 1.000000
 Uncalibrated Peaks : not reported

Signal Description : FID1 A,

| # | RT (min) | Height | Symmetry |
|----|----------|---------|----------|
| 1 | 0.000 | 0.000 | 0.000 |
| 2 | 13.102 | 77.476 | 0.857 |
| 3 | 13.229 | 531.675 | 0.717 |
| 4 | 15.030 | 21.262 | 1.602 |
| 5 | 15.627 | 25.397 | 0.455 |
| 6 | 15.935 | 29.935 | 1.458 |
| 7 | 16.200 | 152.131 | 0.924 |
| 8 | 16.374 | 16.706 | 0.607 |
| 9 | 20.698 | 36.249 | 0.488 |
| 10 | 20.986 | 23.335 | 0.524 |
| 11 | 22.722 | 195.089 | 0.949 |
| 12 | 22.820 | 113.384 | 1.050 |
| 13 | 28.315 | 38.113 | 0.365 |
| 14 | 33.848 | 45.380 | 1.086 |
| 15 | 35.366 | 61.750 | 0.533 |

data file : C:\HPCHEM\2\DATA\N131098\019F1401.D
Sample Name: 2 før

2

| # | RT (min) | Height | Symmetry |
|----|----------|----------|----------|
| 16 | 36.209 | 1120.420 | 0.891 |

Totals:

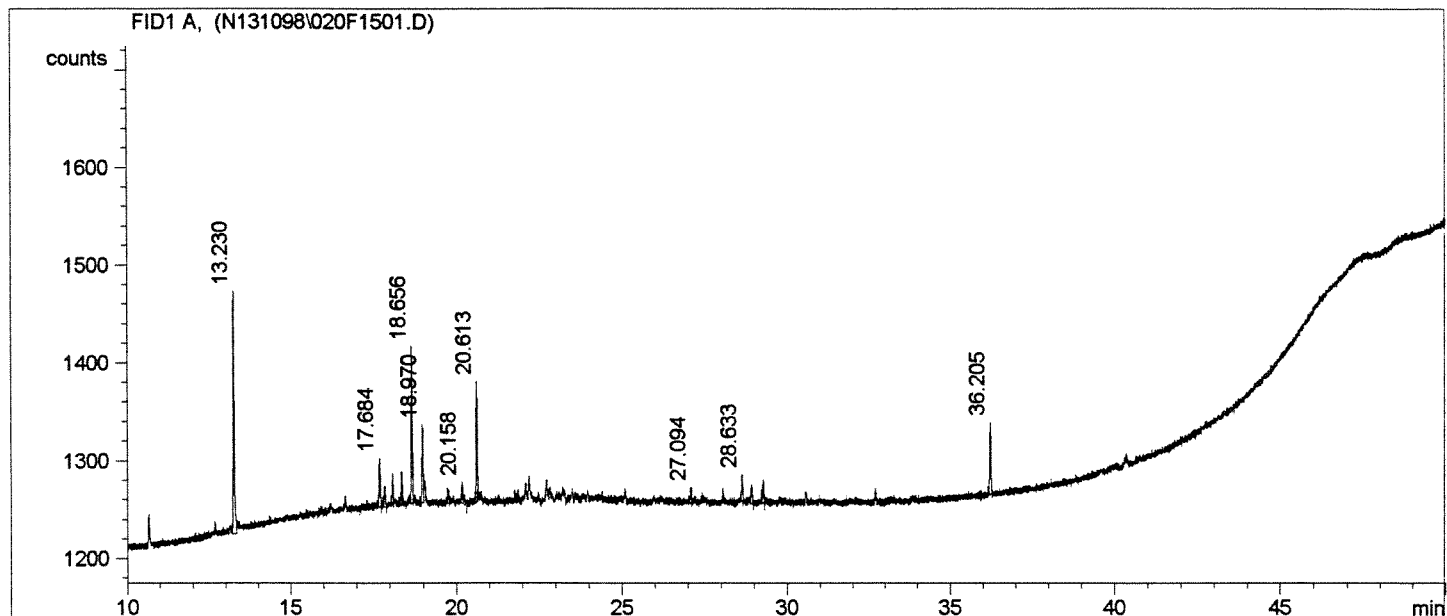
*** End of Report ***

Sample Name: 2b før

Injection Date : Wed, 14. Oct. 1998
 Sample Name : 2b før
 Acq Operator : nof

Seq Line : 15
 Vial No. : 20
 Inj. No. : 1
 Inj. Vol. : -

Acq. Method : BIOAKK.M
 Analysis Method : C:\HPCHEM\2\METHODS\BIOAKK.M
 Last Changed : Thu, 22. Oct. 1998, 04:31:58 pm
 (modified after loading)



=====
 Customized Report: bioakk
 =====

Sorted By Signal

Calib. Data Modified : Fri, 9. Oct. 1998, 10:18:28 am
 Dilution : 1.000000
 Uncalibrated Peaks : not reported

Signal Description : FID1 A,

| # | RT (min) | Height | Symmetry |
|----|----------|---------|----------|
| 1 | 0.000 | 0.000 | 0.000 |
| 2 | 13.230 | 247.986 | 0.715 |
| 3 | 17.684 | 50.844 | 0.827 |
| 4 | 17.845 | 22.632 | 1.181 |
| 5 | 18.077 | 33.508 | 0.929 |
| 6 | 18.345 | 35.778 | 1.376 |
| 7 | 18.656 | 161.906 | 0.975 |
| 8 | 18.970 | 80.798 | 0.786 |
| 9 | 19.717 | 15.669 | 0.211 |
| 10 | 20.158 | 21.897 | 0.307 |
| 11 | 20.613 | 124.709 | 0.918 |
| 12 | 27.094 | 17.178 | 2.598 |
| 13 | 28.633 | 29.060 | 1.279 |
| 14 | 28.910 | 20.183 | 0.664 |
| 15 | 29.260 | 24.776 | 0.574 |

| # | RT (min) | Height | Symmetry |
|----|----------|--------|----------|
| 16 | 36.205 | 74.641 | 0.771 |

Totals:

*** End of Report ***

Sample Name: 3 før

1

```

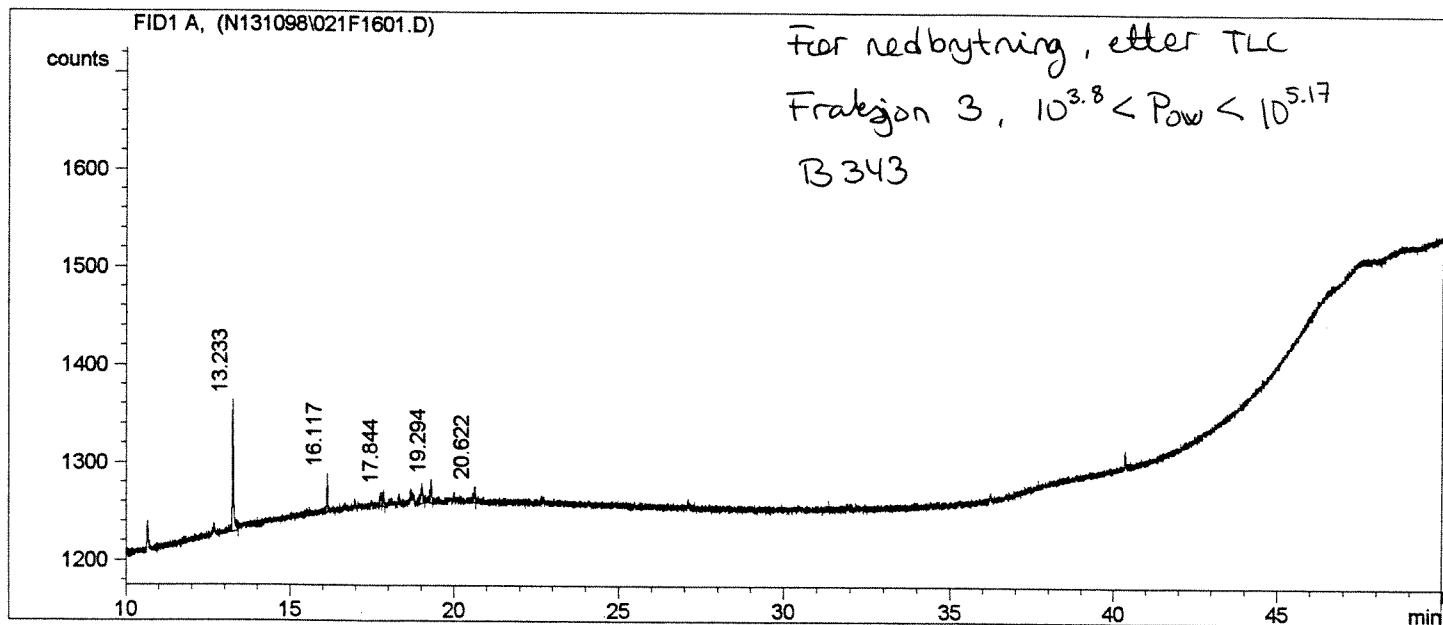
=====
Injection Date   : Wed, 14. Oct. 1998           Seq Line   :           16
Sample Name     : 3 før                         Vial No.   :           21
Acq Operator    : nof                          Inj. No.   :           1
                                           Inj. Vol.  :           -
=====

```

```

Acq. Method     : BIOAKK.M
Analysis Method  : C:\HPCHEM\2\METHODS\BIOAKK.M
Last Changed    : Thu, 22. Oct. 1998, 04:31:58 pm
                  (modified after loading)
=====

```



```

=====
Customized Report: bioakk
=====

```

Sorted By Signal

Calib. Data Modified : Fri, 9. Oct. 1998, 10:18:28 am

Dilution : 1.000000

Uncalibrated Peaks : not reported

Signal Description : FID1 A,

| # | RT (min) | Height | Symmetry |
|---|----------|---------|----------|
| 1 | 0.000 | 0.000 | 0.000 |
| 2 | 13.233 | 135.698 | 0.635 |
| 3 | 16.117 | 40.916 | 0.949 |
| 4 | 17.753 | 15.190 | 0.563 |
| 5 | 17.844 | 17.573 | 1.388 |
| 6 | 18.998 | 22.232 | 0.710 |
| 7 | 19.294 | 24.912 | 0.899 |
| 8 | 20.622 | 17.772 | 1.490 |

```

-----
Totals:
=====

```

```

*** End of Report ***
=====

```

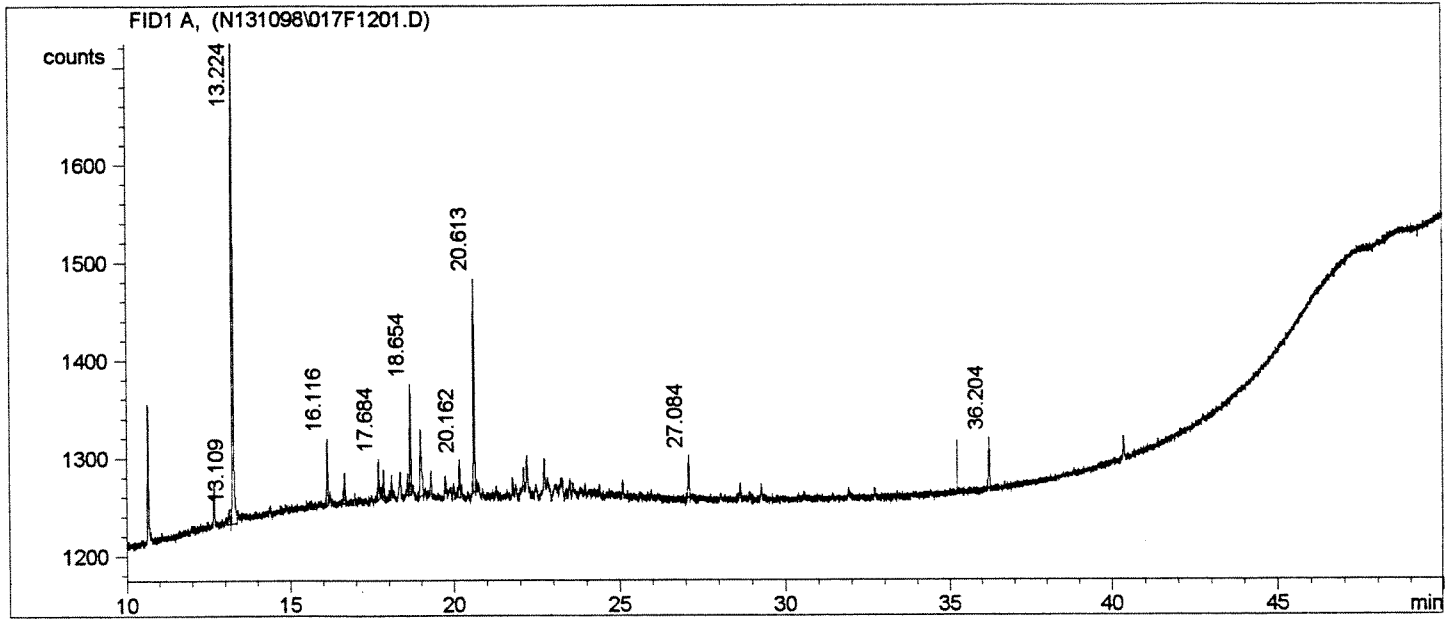
Sample Name: 2B+3 før

1

Injection Date : Tue, 13. Oct. 1998
 Sample Name : 2B+3 før
 Acq Operator : nof

Seq Line : 12
 Vial No. : 17
 Inj. No. : 1
 Inj. Vol. : -

Acq. Method : BIOAKK.M
 Analysis Method : C:\HPCHEM\2\METHODS\BIOAKK.M
 Last Changed : Thu, 22. Oct. 1998, 04:31:58 pm
 (modified after loading)



Customized Report: bioakk

Sorted By Signal

Calib. Data Modified : Fri, 9. Oct. 1998, 10:18:28 am

Dilution : 1.000000

Uncalibrated Peaks : not reported

Signal Description : FID1 A,

| # | RT (min) | Height | Symmetry |
|----|----------|---------|----------|
| 1 | 0.000 | 0.000 | 0.000 |
| 2 | 13.109 | 16.982 | 1.656 |
| 3 | 13.224 | 859.892 | 0.755 |
| 4 | 16.116 | 69.728 | 1.073 |
| 5 | 16.635 | 31.684 | 0.758 |
| 6 | 17.684 | 43.605 | 0.737 |
| 7 | 17.834 | 32.205 | 0.910 |
| 8 | 18.654 | 113.936 | 0.807 |
| 9 | 18.972 | 70.792 | 0.582 |
| 10 | 20.162 | 38.786 | 1.043 |
| 11 | 20.613 | 219.660 | 1.054 |
| 12 | 27.084 | 44.362 | 0.933 |
| 13 | 36.204 | 52.975 | 0.695 |

Totals:

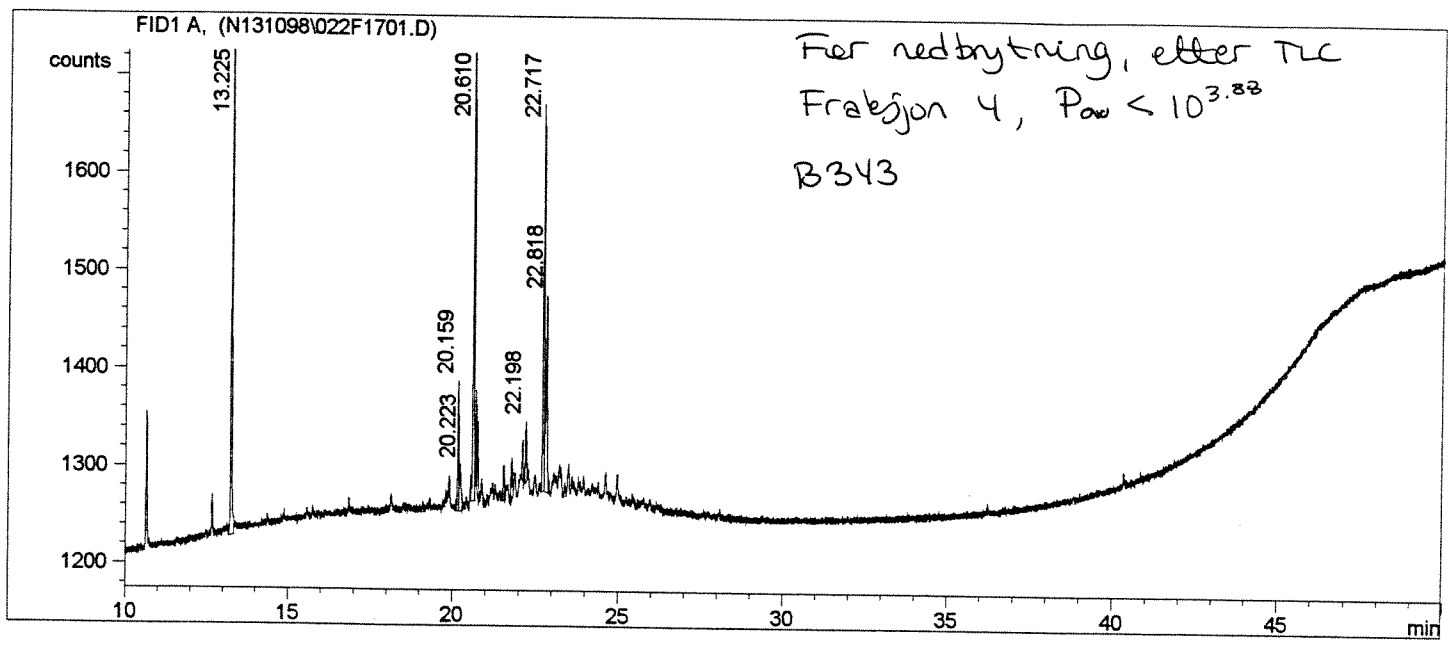
*** End of Report ***

```

=====
Injection Date : Wed, 14. Oct. 1998
Sample Name    : 4 før
Acq Operator   : nof
Seq Line      : 17
Vial No.     : 22
Inj. No.    : 1
Inj. Vol.   : -
=====
  
```

```

Acq. Method    : BIOAKK.M
Analysis Method : C:\HPCHEM\2\METHODS\BIOAKK.M
Last Changed   : Thu, 22. Oct. 1998, 04:31:58 pm
                (modified after loading)
  
```



=====
 Customized Report: bioakk
 =====

```

Sorted By Signal
Calib. Data Modified : Fri, 9. Oct. 1998, 10:18:28 am
Dilution             : 1.000000
Uncalibrated Peaks   : not reported
  
```

Signal Description : FID1 A,

| # | RT (min) | Height | Symmetry |
|----|----------|---------|----------|
| 1 | 0.000 | 0.000 | 0.000 |
| 2 | 13.225 | 527.339 | 0.738 |
| 3 | 20.159 | 133.814 | 1.012 |
| 4 | 20.223 | 48.049 | 0.640 |
| 5 | 20.610 | 582.079 | 0.943 |
| 6 | 20.692 | 97.476 | 1.037 |
| 7 | 20.743 | 73.548 | 0.787 |
| 8 | 21.528 | 37.758 | 0.890 |
| 9 | 21.764 | 46.308 | 0.637 |
| 10 | 22.096 | 42.346 | 1.493 |
| 11 | 22.198 | 63.805 | 0.682 |
| 12 | 22.717 | 397.916 | 0.860 |
| 13 | 22.818 | 202.002 | 1.366 |

Totals:

Data file : C:\HPCHEM\2\DATA\N131098\022F1701.D
Sample Name: 4 før

2

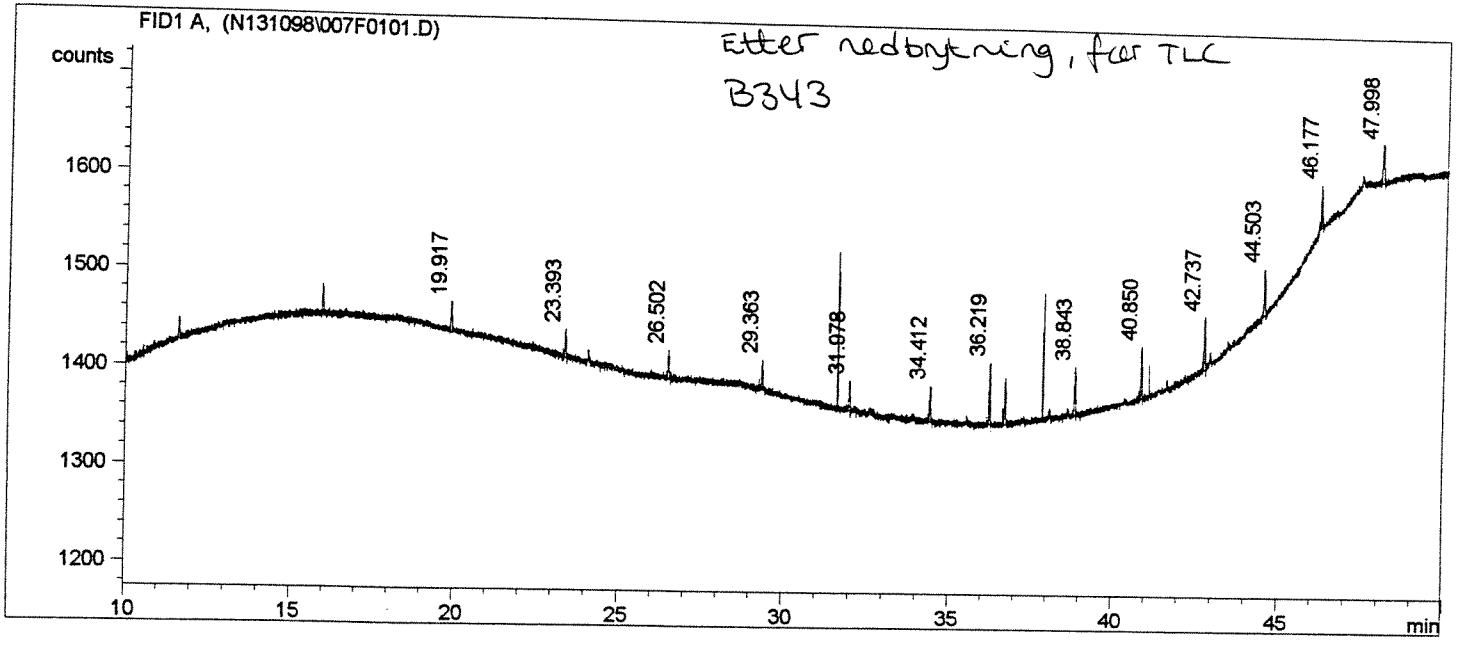
*** End of Report ***


```

Injection Date : Tue, 13. Oct. 1998
Sample Name    : etter, 200 µL
Acq Operator   : nof
Seq Line      : 1
Vial No.     : 7
Inj. No.    : 1
Inj. Vol.   : -
  
```

```

Acq. Method   : BIOAKK.M
Analysis Method : C:\HPCHEM\2\METHODS\BIOAKK.M
Last Changed  : Thu, 22. Oct. 1998, 04:31:58 pm
                (modified after loading)
  
```



Customized Report: bioakk

```

Sorted By Signal
Calib. Data Modified : Fri, 9. Oct. 1998, 10:18:28 am
Dilution             : 1.000000
Uncalibrated Peaks   : not reported
  
```

Signal Description : FID1 A,

| # | RT (min) | Height | Symmetry |
|----|----------|--------|----------|
| 1 | 0.000 | 0.000 | 0.000 |
| 2 | 19.917 | 31.329 | 0.713 |
| 3 | 23.393 | 29.861 | 0.935 |
| 4 | 26.502 | 30.085 | 1.303 |
| 5 | 29.363 | 30.967 | 1.397 |
| 6 | 31.978 | 32.411 | 0.768 |
| 7 | 34.412 | 38.650 | 1.123 |
| 8 | 36.219 | 65.186 | 1.298 |
| 9 | 36.697 | 49.182 | 1.435 |
| 10 | 38.843 | 52.166 | 1.221 |
| 11 | 40.850 | 54.632 | 0.804 |
| 12 | 42.737 | 55.828 | 1.195 |
| 13 | 44.503 | 50.077 | 0.975 |
| 14 | 46.177 | 45.238 | 0.819 |
| 15 | 47.998 | 41.449 | 0.916 |

Data file : C:\HPCHEM\2\DATA\N131098\007F0101.D
Sample Name: etter, 200 µL

2

| # | RT (min) | Height | Symmetry |
|---|----------|--------|----------|
|---|----------|--------|----------|

Totals:

*** End of Report ***

Sample Name: 1 etter

1

Injection Date : Tue, 13. Oct. 1998

Seq Line : 6

Sample Name : 1 etter

Vial No. : 12

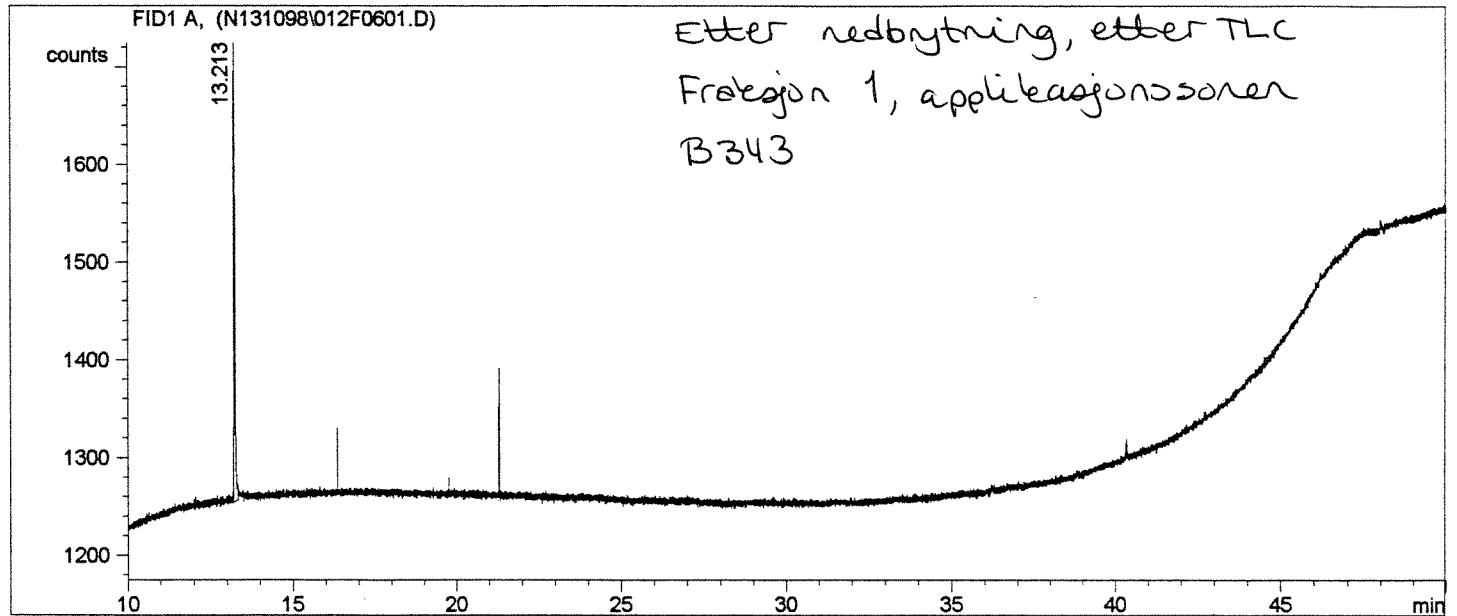
Acq Operator : nof

Inj. No. : 1

Inj. Vol. : -

Acq. Method : BIOAKK.M

Analysis Method : C:\HPCHEM\2\METHODS\BIOAKK.M

Last Changed : Thu, 22. Oct. 1998, 04:31:58 pm
(modified after loading)

Customized Report: bioakk

Sorted By Signal

Calib. Data Modified : Fri, 9. Oct. 1998, 10:18:28 am

Dilution : 1.000000

Uncalibrated Peaks : not reported

Signal Description : FID1 A,

| # | RT (min) | Height | Symmetry |
|---|----------|---------|----------|
| 1 | 0.000 | 0.000 | 0.000 |
| 2 | 13.213 | 474.942 | 0.712 |

Totals:

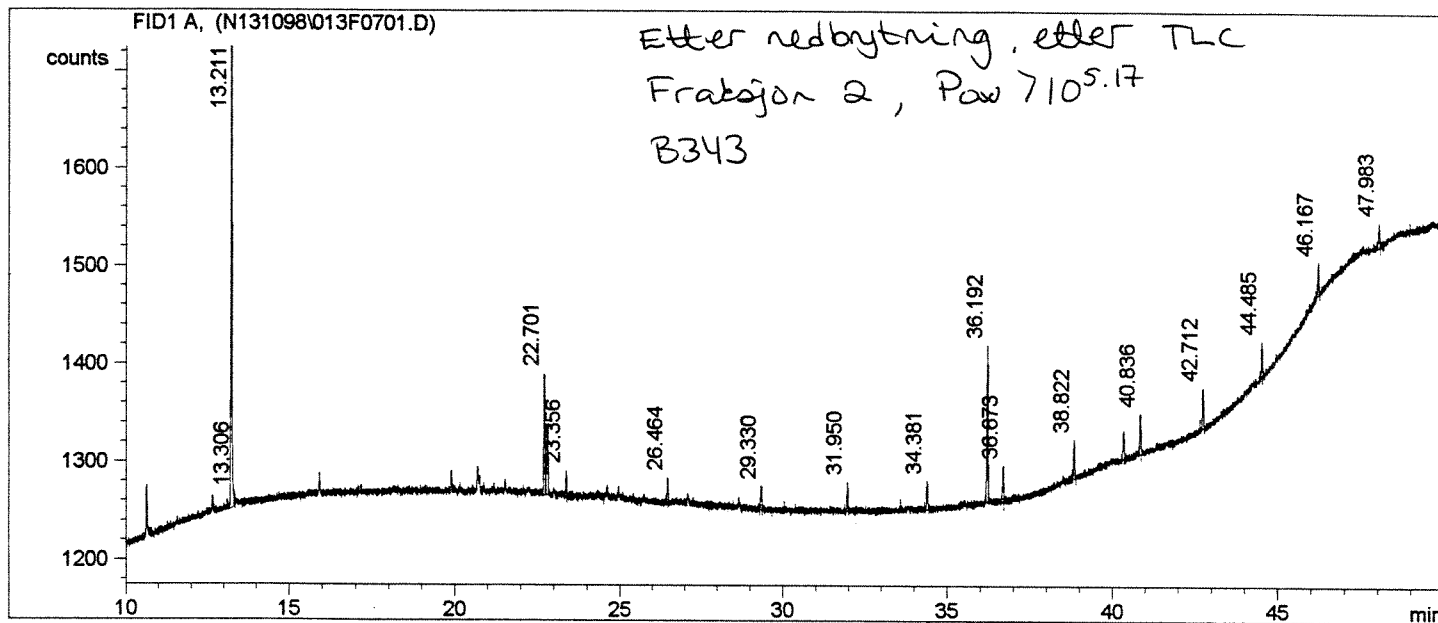
*** End of Report ***

Sample Name: 2 etter

1

```
=====
Injection Date : Tue, 13. Oct. 1998      Seq Line : 7
Sample Name    : 2 etter                  Vial No.  : 13
Acq Operator   : nof                     Inj. No.   : 1
                                           Inj. Vol.  : -
=====
```

```
Acq. Method    : BIOAKK.M
Analysis Method : C:\HPCHEM\2\METHODS\BIOAKK.M
Last Changed   : Thu, 22. Oct. 1998, 04:31:58 pm
                 (modified after loading)
```



Customized Report: bioakk

```
Sorted By Signal
Calib. Data Modified : Fri, 9. Oct. 1998, 10:18:28 am
Dilution             : 1.000000
Uncalibrated Peaks   : not reported
```

Signal Description : FID1 A,

| # | RT (min) | Height | Symmetry |
|----|----------|---------|----------|
| 1 | 0.000 | 0.000 | 0.000 |
| 2 | 13.211 | 520.105 | 0.762 |
| 3 | 13.306 | 15.205 | 0.352 |
| 4 | 22.701 | 125.617 | 0.669 |
| 5 | 22.808 | 69.576 | 2.201 |
| 6 | 23.356 | 28.893 | 0.751 |
| 7 | 26.464 | 27.146 | 0.782 |
| 8 | 29.330 | 24.893 | 0.981 |
| 9 | 31.950 | 30.737 | 0.684 |
| 10 | 34.381 | 30.430 | 0.698 |
| 11 | 36.192 | 161.249 | 1.124 |
| 12 | 36.673 | 38.157 | 1.359 |
| 13 | 38.822 | 41.118 | 1.354 |
| 14 | 40.322 | 30.331 | 0.924 |
| 15 | 40.836 | 42.666 | 1.489 |

| # | RT (min) | Height | Symmetry |
|----|----------|--------|----------|
| 16 | 42.712 | 42.869 | 0.857 |
| 17 | 44.485 | 36.614 | 0.973 |
| 18 | 46.167 | 33.748 | 1.468 |
| 19 | 47.983 | 25.849 | 1.278 |

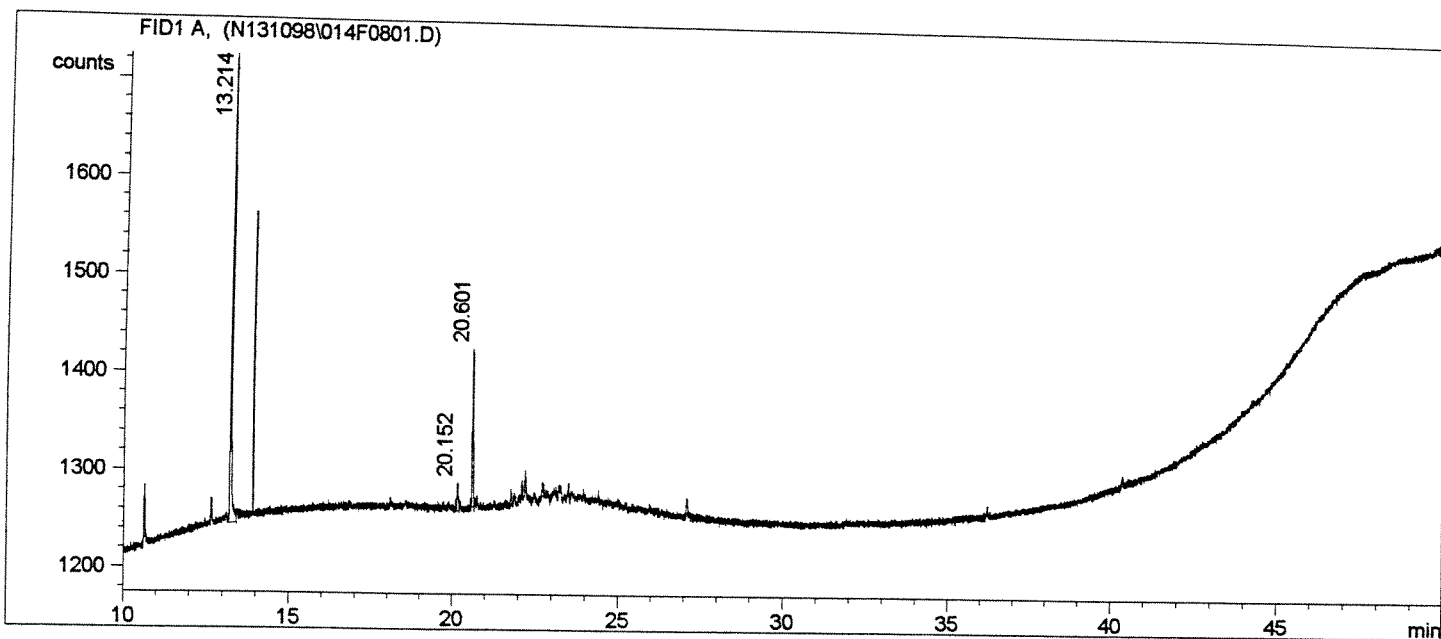
Totals:

*** End of Report ***

Injection Date : Tue, 13. Oct. 1998
Sample Name : 2B etter
Acq Operator : nof

Seq Line : 8
Vial No. : 14
Inj. No. : 1
Inj. Vol. : -

Acq. Method : BIOAKK.M
Analysis Method : C:\HPCHEM\2\METHODS\BIOAKK.M
Last Changed : Thu, 22. Oct. 1998, 04:31:58 pm
(modified after loading)



Customized Report: bioakk

Sorted By Signal

Calib. Data Modified : Fri, 9. Oct. 1998, 10:18:28 am
Dilution : 1.000000
Uncalibrated Peaks : not reported

Signal Description : FID1 A,

| # | RT (min) | Height | Symmetry |
|---|----------|---------|----------|
| 1 | 0.000 | 0.000 | 0.000 |
| 2 | 13.214 | 532.923 | 0.668 |
| 3 | 20.152 | 29.446 | 0.857 |
| 4 | 20.601 | 162.844 | 0.876 |

Totals:

*** End of Report ***

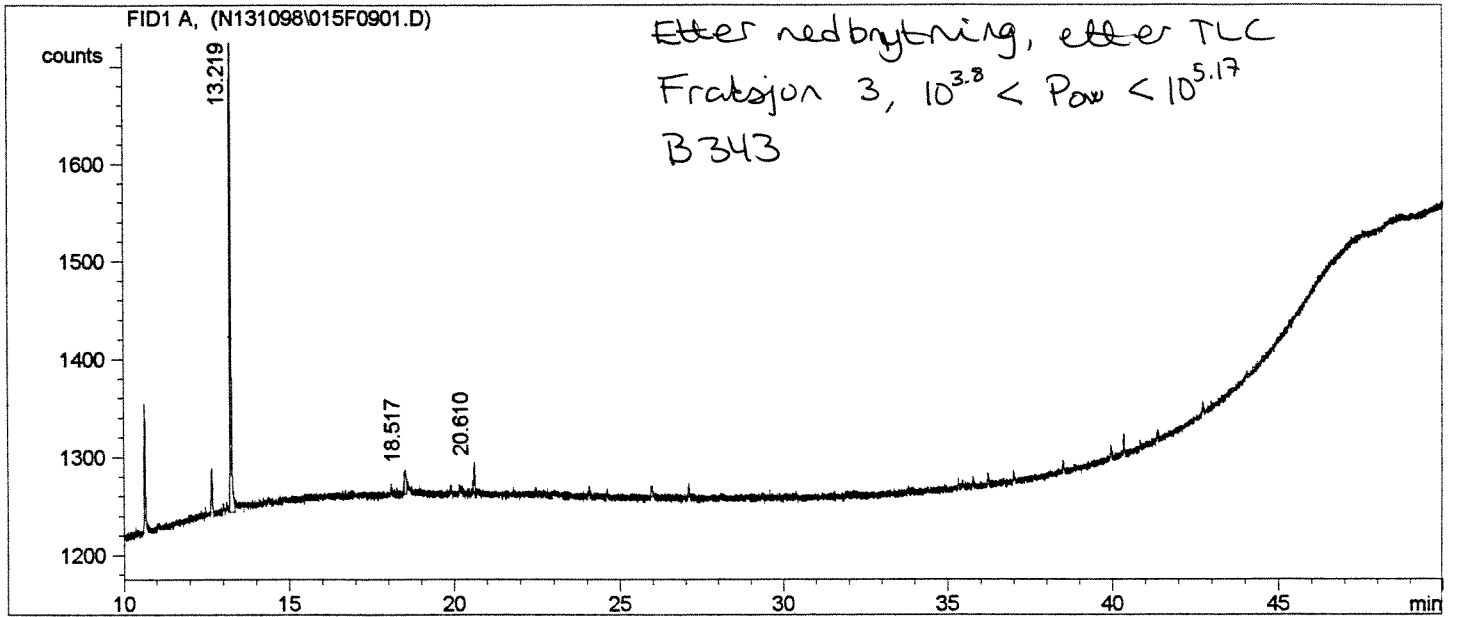
Sample Name: 3 etter

1

Injection Date : Tue, 13. Oct. 1998
 Sample Name : 3 etter
 Acq Operator : nof

Seq Line : 9
 Vial No. : 15
 Inj. No. : 1
 Inj. Vol. : -

Acq. Method : BIOAKK.M
 Analysis Method : C:\HPCHEM\2\METHODS\BIOAKK.M
 Last Changed : Thu, 22. Oct. 1998, 04:31:58 pm
 (modified after loading)



Customized Report: bioakk

Sorted By Signal

Calib. Data Modified : Fri, 9. Oct. 1998, 10:18:28 am

Dilution : 1.000000

Uncalibrated Peaks : not reported

Signal Description : FID1 A,

| # | RT (min) | Height | Symmetry |
|---|----------|---------|----------|
| 1 | 0.000 | 0.000 | 0.000 |
| 2 | 13.219 | 632.491 | 0.745 |
| 3 | 18.517 | 26.109 | 1.307 |
| 4 | 20.610 | 31.878 | 1.021 |

Totals:

*** End of Report ***

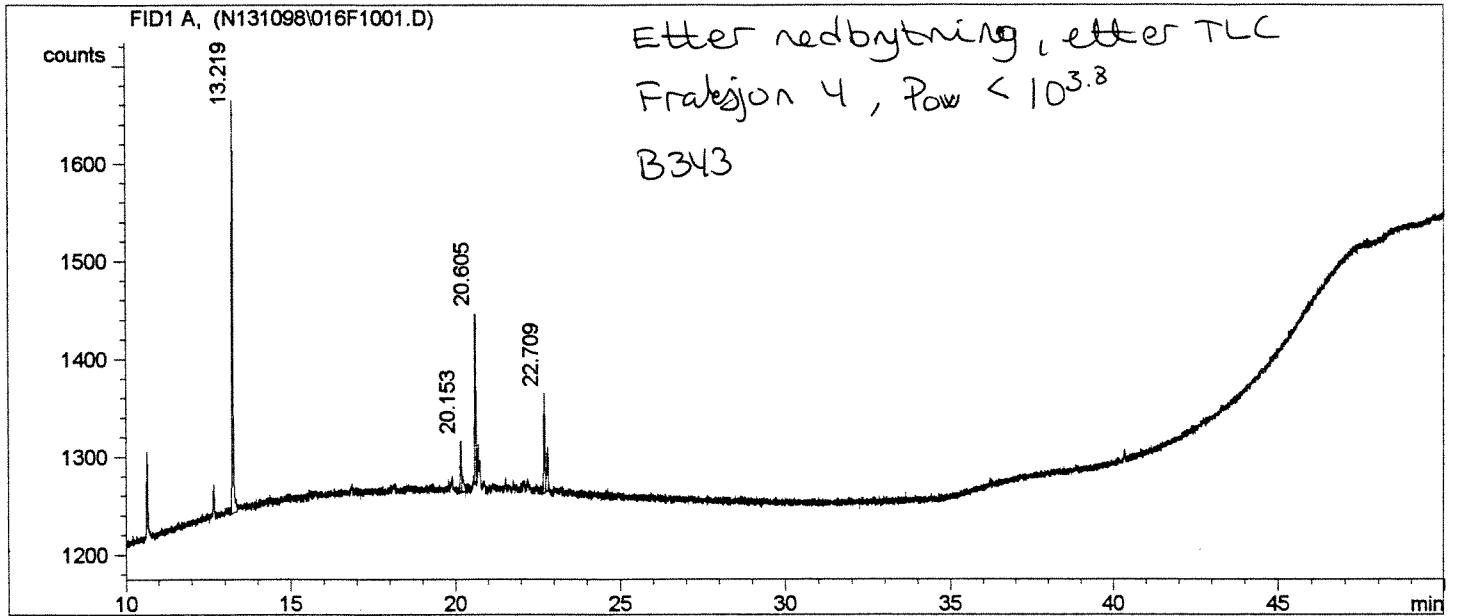
Sample Name: 4 etter

1

Injection Date : Tue, 13. Oct. 1998
 Sample Name : 4 etter
 Acq Operator : nof

Seq Line : 10
 Vial No. : 16
 Inj. No. : 1
 Inj. Vol. : -

Acq. Method : BIOAKK.M
 Analysis Method : C:\HPCHEM\2\METHODS\BIOAKK.M
 Last Changed : Thu, 22. Oct. 1998, 04:31:58 pm
 (modified after loading)



Customized Report: bioakk

Sorted By Signal

Calib. Data Modified : Fri, 9. Oct. 1998, 10:18:28 am

Dilution : 1.000000

Uncalibrated Peaks : not reported

Signal Description : FID1 A,

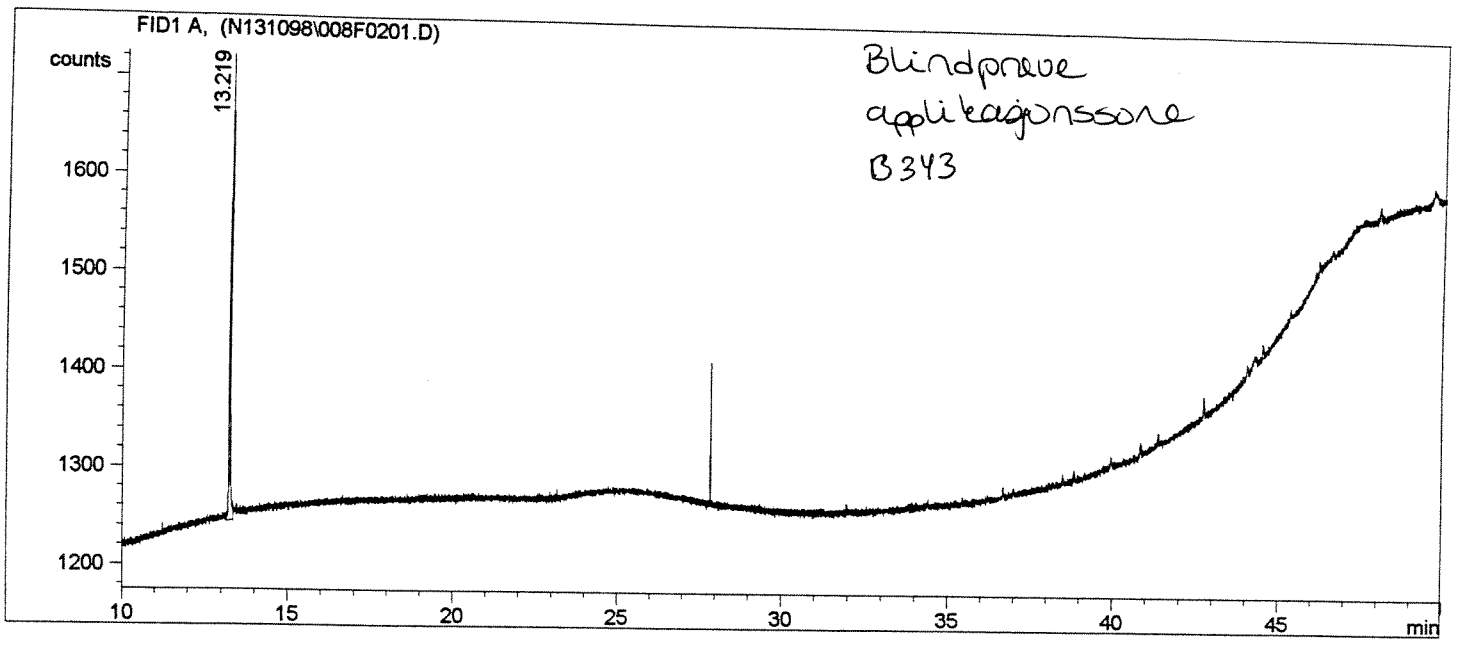
| # | RT (min) | Height | Symmetry |
|---|----------|---------|----------|
| 1 | 0.000 | 0.000 | 0.000 |
| 2 | 13.219 | 423.822 | 0.689 |
| 3 | 20.153 | 54.164 | 0.980 |
| 4 | 20.208 | 17.468 | 0.268 |
| 5 | 20.605 | 174.938 | 0.923 |
| 6 | 22.709 | 102.822 | 0.746 |
| 7 | 22.812 | 46.121 | 1.756 |

Totals:

*** End of Report ***

===== 1
Injection Date : Tue, 13. Oct. 1998
Sample Name : 1 BL
Acq Operator : nof
Seq Line : 2
Vial No. : 8
Inj. No. : 1
Inj. Vol. : -

Acq. Method : BIOAKK.M
Analysis Method : C:\HPCHEM\2\METHODS\BIOAKK.M
Last Changed : Thu, 22. Oct. 1998, 04:31:58 pm
(modified after loading)



=====
Customized Report: bioakk
=====

Sorted By Signal
Calib. Data Modified : Fri, 9. Oct. 1998, 10:18:28 am
Dilution : 1.000000
Uncalibrated Peaks : not reported

Signal Description : FID1 A,

| # | RT (min) | Height | Symmetry |
|---|----------|---------|----------|
| 1 | 0.000 | 0.000 | 0.000 |
| 2 | 13.219 | 478.570 | 0.725 |

Totals:

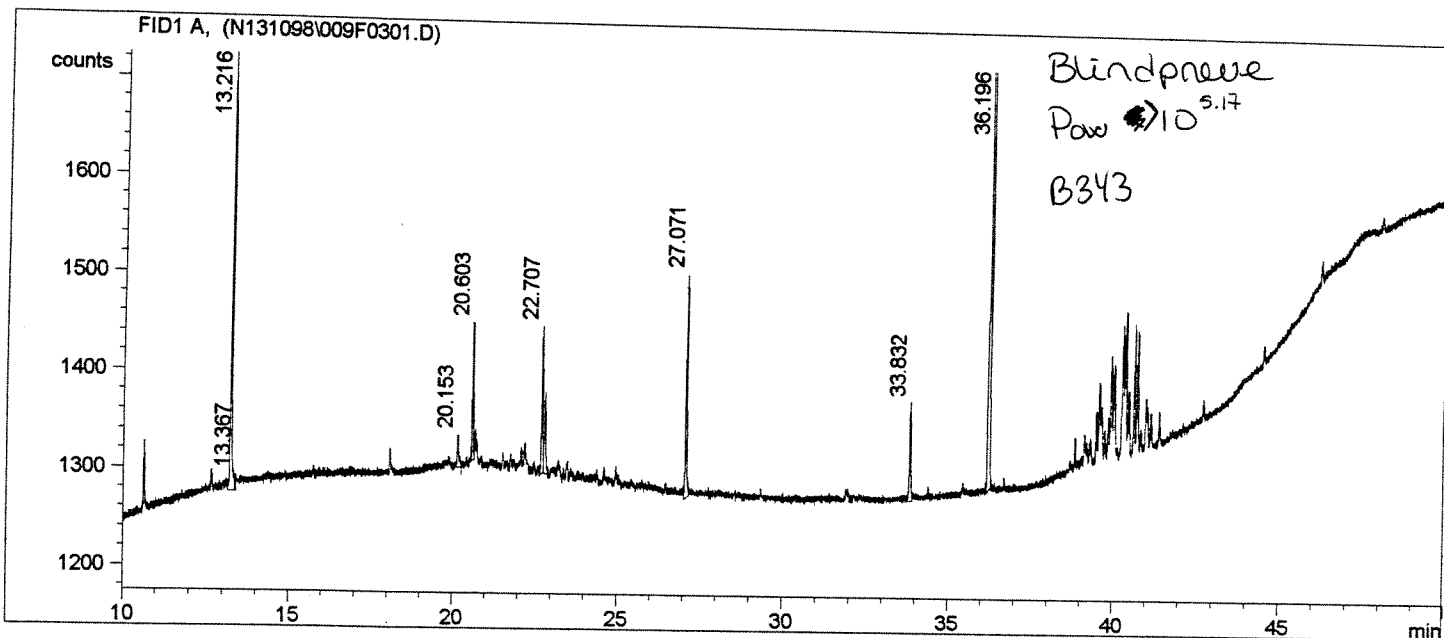
=====
*** End of Report ***

```

=====
Injection Date : Tue, 13. Oct. 1998
Sample Name    : 2 BL
Acq Operator   : nof
Seq Line      : 3
Vial No.      : 9
Inj. No.      : 1
Inj. Vol.     : -
=====
  
```

```

Acq. Method    : BIOAKK.M
Analysis Method : C:\HPCHEM\2\METHODS\BIOAKK.M
Last Changed   : Thu, 22. Oct. 1998, 04:31:58 pm
                  (modified after loading)
  
```



=====
 Customized Report: bioakk
 =====

```

Sorted By Signal
Calib. Data Modified : Fri, 9. Oct. 1998, 10:18:28 am
Dilution             : 1.000000
Uncalibrated Peaks   : not reported
  
```

Signal Description : FID1 A,

| # | RT (min) | Height | Symmetry |
|----|----------|----------|----------|
| 1 | 0.000 | 0.000 | 0.000 |
| 2 | 13.216 | 509.345 | 0.732 |
| 3 | 13.367 | 17.332 | 1.190 |
| 4 | 20.153 | 33.364 | 0.636 |
| 5 | 20.603 | 142.193 | 0.963 |
| 6 | 22.707 | 152.567 | 0.758 |
| 7 | 22.807 | 84.630 | 1.069 |
| 8 | 27.071 | 232.487 | 0.771 |
| 9 | 33.832 | 102.859 | 0.919 |
| 10 | 36.196 | 2442.637 | 1.056 |

 Totals:

=====
 *** End of Report ***

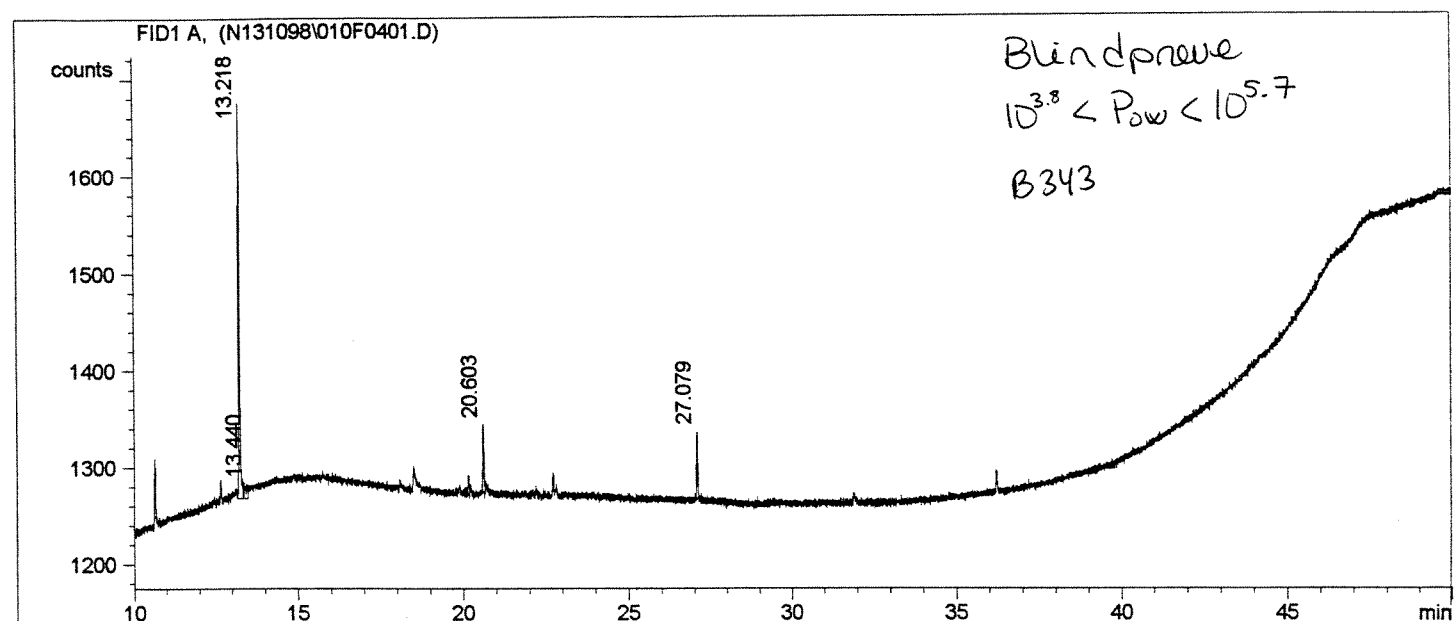
Sample Name: 3 BL

1

Injection Date : Tue, 13. Oct. 1998
 Sample Name : 3 BL
 Acq Operator : nof

Seq Line : 4
 Vial No. : 10
 Inj. No. : 1
 Inj. Vol. : -

Acq. Method : BIOAKK.M
 Analysis Method : C:\HPCHEM\2\METHODS\BIOAKK.M
 Last Changed : Thu, 22. Oct. 1998, 04:31:58 pm
 (modified after loading)



Customized Report: bioakk

Sorted By Signal
 Calib. Data Modified : Fri, 9. Oct. 1998, 10:18:28 am
 Dilution : 1.000000
 Uncalibrated Peaks : not reported

Signal Description : FID1 A,

| # | RT (min) | Height | Symmetry |
|---|----------|---------|----------|
| 1 | 0.000 | 0.000 | 0.000 |
| 2 | 13.218 | 409.643 | 0.660 |
| 3 | 13.360 | 15.999 | 1.839 |
| 4 | 13.440 | 16.033 | 1.620 |
| 5 | 20.151 | 18.475 | 0.716 |
| 6 | 20.603 | 70.731 | 0.759 |
| 7 | 27.079 | 69.813 | 1.182 |

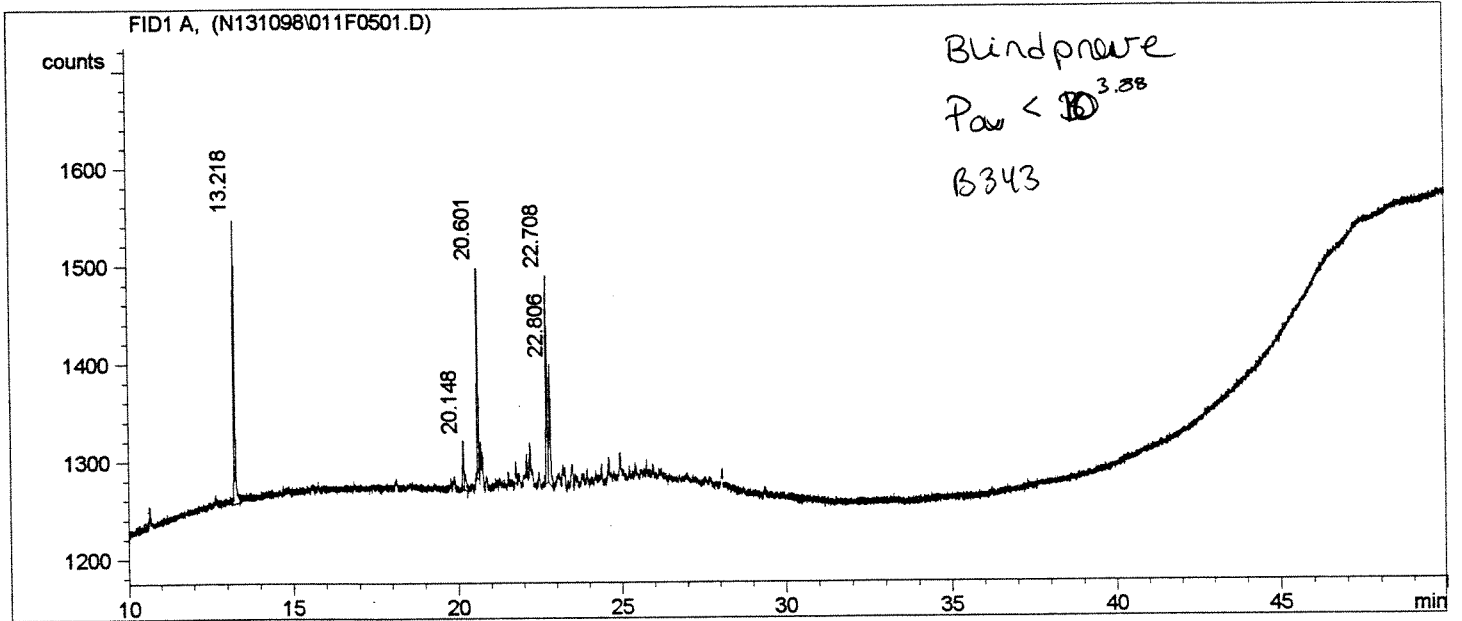
Totals:

*** End of Report ***

Sample Name: 4 BL

| | | | |
|----------------|----------------------|-----------|------|
| Injection Date | : Tue, 13. Oct. 1998 | Seq Line | : 5 |
| Sample Name | : 4 BL | Vial No. | : 11 |
| Acq Operator | : nof | Inj. No. | : 1 |
| | | Inj. Vol. | : - |

Acq. Method : BIOAKK.M
 Analysis Method : C:\HPCHEM\2\METHODS\BIOAKK.M
 Last Changed : Thu, 22. Oct. 1998, 04:31:58 pm
 (modified after loading)



Customized Report: bioakk

Sorted By Signal
 Calib. Data Modified : Fri, 9. Oct. 1998, 10:18:28 am
 Dilution : 1.000000
 Uncalibrated Peaks : not reported

Signal Description : FID1 A,

| # | RT (min) | Height | Symmetry |
|---|----------|---------|----------|
| 1 | 0.000 | 0.000 | 0.000 |
| 2 | 13.218 | 291.648 | 0.681 |
| 3 | 20.148 | 50.941 | 0.797 |
| 4 | 20.216 | 16.687 | 0.632 |
| 5 | 20.601 | 217.733 | 0.908 |
| 6 | 22.708 | 214.090 | 0.807 |
| 7 | 22.806 | 123.166 | 0.958 |

Totals:

*** End of Report ***