



RAPPORT LNR 5130-2006

Karakterisering av
toksisk grunnvannsprøve
fra Herøya

TIE-undersøkelse av
grunnvannsbrønn 502

Hovedkontor

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

Sørlandsavdelingen

Televeien 3
4879 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

Midt-Norge

Postboks 1266
7462 Trondheim
Telefon (47) 73 54 63 85 / 86
Telefax (47) 54 63 87

Tittel Karakterisering av toksisk grunnvannsprøve fra Herøya - TIE-undersøkelse av grunnvannsbrønn 502	Løpenr. (for bestilling) 5130-2006	Dato 06.01.2006
	Prosjektnr. Undernr. 25185	Sider Pris 42
Forfatter(e) Torsten Källqvist Kevin Thomas Hege Stubberud, <i>Jordforsk</i>	Fagområde Økotoksikologi	Distribusjon
	Geografisk område Telemark	Trykket NIVA

Oppdragsgiver(e) Hydro Porsgrunn Industripark	Oppdragsreferanse Sverre Olav Lie
--------------------------------------------------	--------------------------------------


Sammendrag

En "Toxicity Identification Evaluation" (TIE) undersøkelse er utført på en grunnvannsprøve fra Herøya som har vist høy toksisitet målt med Microtox. Resultatet av undersøkelsen viser at toksisiteten hovedsakelig skyldes en eller flere organiske komponent(er) som er lite løselig ved lav pH.

Fire norske emneord 1. Grunnvann 2. Toksisitet 3. TIE 4.	Fire engelske emneord 1. Ground water 2. Toxicity 3. TIE 4.
----------------------------------------------------------------------	-------------------------------------------------------------------------



Torsten Källqvist
Prosjektleder



Kevin Thomas
Forskningsleder



Øyvind Sørensen
Ansvarlig

**Karakterisering av toksisk grunnvannsprøve fra
Herøya**
TIE-undersøkelse av grunnvannsbrønn 502

Forord

Som oppfølging av en tidligere gjennomført karakterisering av grunnvannsbrønner på Herøya, Porsgrunn henvendte seg Hydro Industripark til NIVA for å få utført en ytterligere undersøkelse av vann fra en grunnvannsbrønn som har vist seg å være toksisk i en bakterietest (Microtox). NIVA laget et forslag til program for den utvidede karakteriseringen som ble godkjent av Hydro Industripark 22.11.2005.

Undersøkelsen er utført av Kevin Thomas og Torsten Källqvist ved NIVA og Hege Stubberud ved Jordforsk (Microtox-tester).

Oslo, 06.01.2006

Torsten Källqvist

Innhold

1. Bakgrunn	5
2. Metoder	5
2.1 TIE manipuleringer	5
2.2 Toksitetsteter	6
2.3 Kjemiske analyser	6
3. Resultater og diskusjon	7
4. Konklusjon	10
5. Referanser	10
Vedlegg 1 – Microtox-tester	11
Vedlegg 2 – Kjemiske analyser	32

1. Bakgrunn

Ved undersøkelse av grunnvannsprøver fra Herøya i august 2005, ble det påvist høy toksisitet målt med bakterietesten Microtox i grunnvann fra brønn 502 (Källqvist 2005a). En ny prøve fra brønn 502 ble tatt 10 oktober 2005 og testene verifiserte høy toksisitet, spesielt i Microtox-testen (Källqvist 2005b). Et forslag til prosedyre for å identifisere årsaken til toksisiteten i grunnvannet ble utarbeidet og undersøkelsen ble gjennomført i november-desember 2005.

2. Metoder

Delprøver av grunnvann fra brønn 502 tatt 10 oktober ble oppbevart frosset ved -20 °C intill undersøkelsen ble utført. Vannprøven var en sterkt brun, klar løsning med pH-verdi ca. 11.8. Metoden som ble benyttet for karakterisering av prøven er basert på en protokoll "Toxicity Identification Evaluation" (TIE – phase 1) utviklet av USEPA. Dette innebærer at prøven gjennomgår forskjellige manipuleringer. Etter hver manipulering sammenliknes toksisiteten med toksisiteten i ubehandlet prøve. På grunnlag av hvilke manipuleringer som reduserer toksisiteten kan man trekke konklusjoner om hva slags komponenter som er årsak til toksisiteten. Følgende manipuleringer av prøven ble foretatt:

Manipulation	Information
Ingen	"Baseline toxicity" etter lagring av prøve.
C18/ENV+ Fast fase-ekstraksjon @ pH 2, 7 & 12	Bestemme % toksisitet som skyldes organiske substanser som kan ekstraheres ved forskjellige pH-verdier.
Aktivt kull ("kjemisk svamp")	Bestemme % toksisitet som skyldes organiske stoffer som kan ekstraheres med aktivt kull.
Lufting etter pH justering til pH 2 og 12	Bestemme % of toksisitet som skyldes flyktige forbindelser ved ulike pH-verdier.
pH justering til pH 2 + sentrifugering	Bestemme % of toxicity som skyldes stoffer som er lite løselige ved pH 2

2.1 TIE manipuleringer

C18/ENV+ SolidPhase Extraction (SPE)

Delprøver ble justert til pH 2, 7 og 12 ved tilsetning av 1 N HCl og 1 N NaOH og filtrert gjennom en 500 mg C18/Env+ SPE-kolonne (International Technology, Hengood, Mid Glam, UK) som var preparert med 10 ml metanol + 10 ml vann.

Aktivt kull

Ca. 1 g finfordelt aktivt kull ble satt til 200 ml av prøven. Blandningen ble ristet i ca. 1 time før kullet ble fjernet ved filtrering gjennom et HCl-vasket Wathman GF/C glassfiberfilter.

Lufting

250 ml delprøver ble justert til hhv. pH 2 og pH 12 m.h.a. tilsetning av 1 N HCl og 1 N NaOH, og luftet i målesylindere ved innblåsing av luft fra en akvariepumpe gjennom et glassrør i 60 min.

pH justering/sentrifugering

Det ble registrert at pH-justering til pH 2 førte til en brunfarget utfelling i prøven. En delprøve ble derfor justert til pH 2 og sentrifugert til i 10 min ved 10 000 G. for å fjerne utfellingen.

2.2 Toksisitetsteter

Etter manipulering ble alle prøver justert til pH 8 før testing av toksisitet med Microtox ved Jordforsk. I mikrotokstesten undersøkes hemming av lysutsendelse fra den luminiserende bakterien *Vibrio fischeri*. Responsen blir uttrykt som EC₅₀-verdi, som er den konsentrasjon av prøven som gir 50 % hemming. EC₅₀-verdien kan omregnes til "Toxic Units" (TU) for å få en parameter som er proporsjonal med toksisiteten ($TU = 100/EC_{50}$, hvor EC₅₀ er angitt som volum % av prøven).

Flere av prøvene var sterkt farget. I metodebeskrivelsen anbefales det å korrigere for fargede prøver ved å benytte en ikke-giftig løsning med tilsvarende farge. Humussyrer blir ofte benyttet for fargekorreksjon, men er kjent for også å være giftig for *Vibrio fischeri*. Da det ikke er usannsynlig at fargen i prøvene som undersøkes her skyldes nettopp humussyrer, ble en humussyre fra Sigma brukt som fargekorreksjon. EC₅₀ ble bestemt for Sigma humussyren (17.9 µg/l (konf. int.: 13.3 – 24.1)). Deretter ble det laget en standardkurve for absorbans av humussyren ved bølgelengde 350 nm i et spektrofotometer. Hver av de 8 prøvene ble så blandet ut til nøyaktig EC₅₀ og EC₁₀ konsentrasjoner, og absorbansen målt. Fargen på prøvene ble deretter relatert til standardkurven for humussyrer. Dersom fargen i prøvene skyldes humussyrer kan dette gi et mål på hvor stor andel av toksisiteten som skyldes farge og effekter av humussyrer. Det er dessverre ikke mulig å si hvor stor andel av effekten som bare skyldes farge.

2.3 Kjemiske analyser

TOC analyse

Alle manipulererte prøver ble analysert for totalt organisk karbon (TOC) med en Tekmar Dohrmann Apollo 9000 HS TOC-analysator. Ved denne metoden omdannes organisk karbon til CO₂ ved katalytisk forbrenning ved 680 °C. CO₂ blir bestemt med en NDIR-detektor.

Electrospray Tandem MS analyse(ESI/MS)

Et massespektrum av prøvene ble analysert med "Quattro Premier triple quadrupole" med elektropray-ionisering (Micromass, Manchester, UK). Grunnvannsprøven ble injisert direkte i massespektrometeret som ble operert i negativ/positiv modus med mutippel reaksjon-monitering. Nitrogen (47 l min⁻¹) ble brukt som "cone gas" og argon (0.3 ml min⁻¹) som kollisjonsgas med et trykk på 4.9 x 10⁻³ mbar. Alle data ble registrert i "full scan".

GC-MS analyse

SPE-kolonnen som var brukt ved pH 2 ble eluert med diklormetan og ekstraktet analysert med GC-MS med et Agilent 5530 system. GC-kolonnen var en Rtx-35 (J&W Scientific, 30 m x 0.25 mm x 0.25 µm): Temperaturprogrammet var 40-280 °C med 5°C min⁻¹ and ble holdt ved 280°C i 10 min. 1 µl ble injisert "splitless" ved 270 °C. Massespektrometeret ble operert i "full scan mode" (50-550 AMU). Massespektret ble analysert med et "automated mass spectral deconvolution and identification system" (AMDIS, National Institute of Standards and Technology, Gaithersburg, MD, USA). Alle dekonvolverte massespektra ble sammenlignet med referansespektra i "National institute of Standards and Technology mass spectral database" for tentativ identifisering.

3. Resultater og diskusjon

Resultatene av toksisitetstestene med Microtox er vist i vedlegg 1. EC-verdier er sammenstilt i tabell 1. Av ukjent årsak var den ubehandlede grunnvannsprøven nå betydelig lavere enn når samme prøve ble testet like etter prøvetaking i oktober 2005. EC₅₀ for ubehandlet prøve (benevnt "neat" i vedlegg 1) var 11.6 % mot tidligere 0.39 %. Årsaken til redusert toksisitet kan være at frysingen av den konsentrerte løsningen av organisk stoff medført utfellinger som ikke lot seg løse igjen ved tining. Den forholdsvis lave toksisiteten som nå ble registrert medførte at alle tester måtte gjennomføres i et høyere konsentrasjonsområde av prøven. Dermed oppsto problemer med prøvens farge som interfererte med registreringene av lysutsendelse i Microtox-testen. Det ble gjort parallelle tester med humussyre for å kunne beregne hvor stor del av toksisiteten i prøvene som skyldes farge og toksisitet av humussyre i prøvene med betydelig farge. Det er dessverre ikke mulig å si hvor stor andel av effekten som bare skyldes farge. Resultatene er sammenstilt i tabell 2.

Tabell 1. Resultater fra Microtox gjennomført på 8 ulike vannprøver

Prøve	EC ₁₀ (95 % konf. int.)	EC ₅₀ (95 % konf. int)	Betydelig farge
Ubehandlet (neat)	2.55 % (2.23 – 2.92)	11.59 % (10.95-12.27)	X
Aktivt kull (A.C)	12.31 % (7.89-19.20)	59.37 % (52.58-67.04)	X
SPE pH 2	>> 100 %	>> 100 %	
SPE pH 7	1.71 % (1.51-1.95)	6.90 % (6.15-7.75)	X
SPE pH 12	13.73 % (11.48-16.42)	39.30 % (36.29-42.57)	X
pH 2 /centrifuged	15.96 % (13.91-18.32)	65.07 (61.86-68.45)	
Luftet pH 2	5.41 % (4.90-5.97)	22.84 % (22.02-23.69)	X
Luftet pH 12	13.73 % (11.48-16.42)	39.30 % (36.29-42.57)	X

Tabell 2. Absorbans ved EC₅₀ og EC₁₀ for sterkt fargede prøver og absorbans ved EC₅₀ i forhold til en humus-referanse

Prøve	Absorbans ved EC ₅₀	Absorbans ved EC ₁₀	Abs. Prøve-EC ₅₀ /Abs. Humus-EC ₅₀ *100 %
Ubehandlet	1.75	0.52	46 %
Aktivt kull	3.1	1.035	82 %
Luftet pH 2	1.025	0.27	27 %
Luftet pH 12	1.995	0.62	53 %
SPE pH 7	0.74	0.275	20 %
SPE pH 12	4.35	1.555	115 %

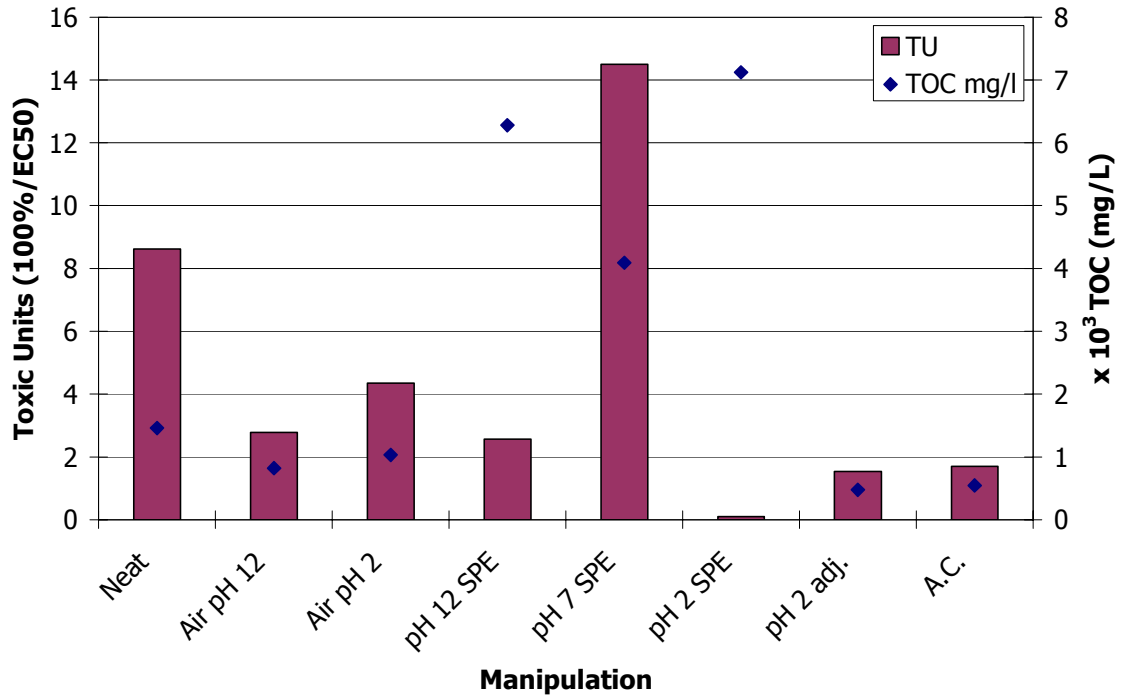
Sammenligningen med referanseprøven med humussyre viser at toksiske- og/eller farge-effekter ikke kan forklare toksisiteten helt i noen av prøvene unntatt SPE pH 12. I den ubehandlede prøven forklarer humussyre-effekten 46 % av hemmingen i Microtox-testen.

Resultatene av den forenklede Fase1 TIE-analysen er vist i figur 1. Alle manipuleringer unntatt fast-fase ekstraksjon ved pH 7 reduserte prøvens toksisitet. Den største reduksjonen skjedde med SPE ved pH 2, og mye av denne reduksjonen forklares av utfellingen av organiske komponenter som skjer ved lav pH som vist ved sentrifugering av prøven ved pH 2. Dette indikerer at hovedparten av de toksiske komponentene ikke er løselige ved pH 2 og at den eller de gjenstående toksiske forbindelsen(e) adsorberes på SPE-kolonnen. Disse resultatene tyder på at den eller de toksiske stoffene i grunnvannsprøven er organiske baser som er lite løselige ved pH 2. I forbindelse med en tidligere analyse av prøver fra brønn 502 er det foreslått at det høye innholdet av TOC kan skyldes humussyrer (Kolstad et al. 2005)). Resultatene av TIE-undersøkelsen støtter ikke den hypotesen, fordi humussyrer ikke felles ut ved lav pH.

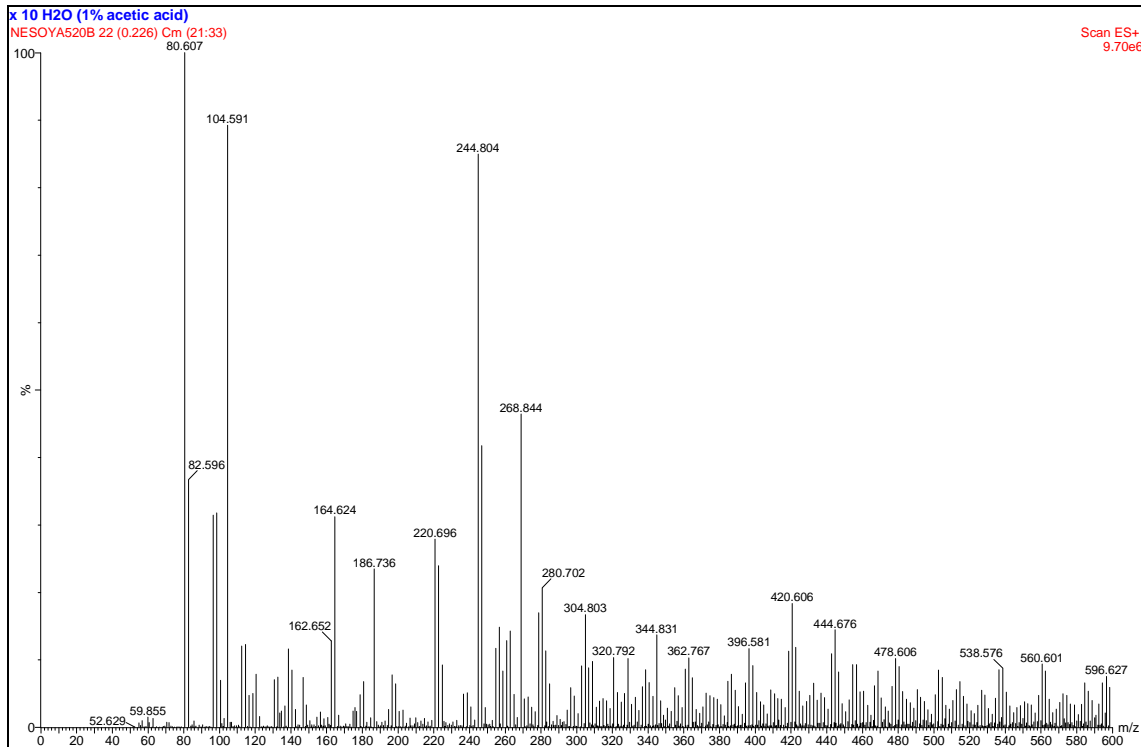
De andre manipuleringene som reduserte toksisiteten var lufting ved pH 2 og pH 12 samt ekstrahering med aktivt kull. Den observerte økningen i toksisitet etter SPE-ekstraksjon ved pH 7 kan ikke forklares. Siden den originale prøven hadde et høyt innhold av organisk karbon ble prøver analysert for TOC etter hvert manipuleringsstrinn for å se om toksisiteten kunne koples til innholdet av organisk karbon. Ved alle manipuleringer med unntak av SPE-ekstraksjonene, var det et samsvar mellom fjerning av TOC og reduksjon i toksisitet. Uventet var at SPE-ekstraksjonene så ut til å øke TOC-konsentrasjonen i prøvene. Årsaken til denne økningen er ikke kjent, men skyldes trolig utlekking av organiske forbindelser fra kolonnen, trolig rester av metanol fra prepareringen. Dette har imidlertid ikke medført vesentlig toksisitet.

Bred-spektrum kjemisk analyse av prøven med ESI-MS tyder på at det høye TOC-innholdet skyldes relativt få stoffer (Fig. 2). Massespektraet er relativt enkelt og betyr at bare noen få forbindelser i prøven kan ioniseres av ESI. GC-MS kromatogrammet av SPE-ekstraktet ved pH 2 er mye mer sammensatt (fig. 3) med en lang liste av tentativt identifiserte forbindelser. (vedlegg 2) De stoffene som er fanget opp i denne fraksjonen er altså de som fortsatt var i løsning etter utfellingen som skjedde ved pH 2. Fjerningen av disse medførte en reduksjon av toksisiteten som vist i figur 1, og de har altså bidratt til toksisiteten i grunnvannsprøven. Ingen av stoffene som er identifisert peker seg ut som forklaring av den observerte toksisiteten, men det er trolig at det skjer en samlet virkning av flere stoffer.

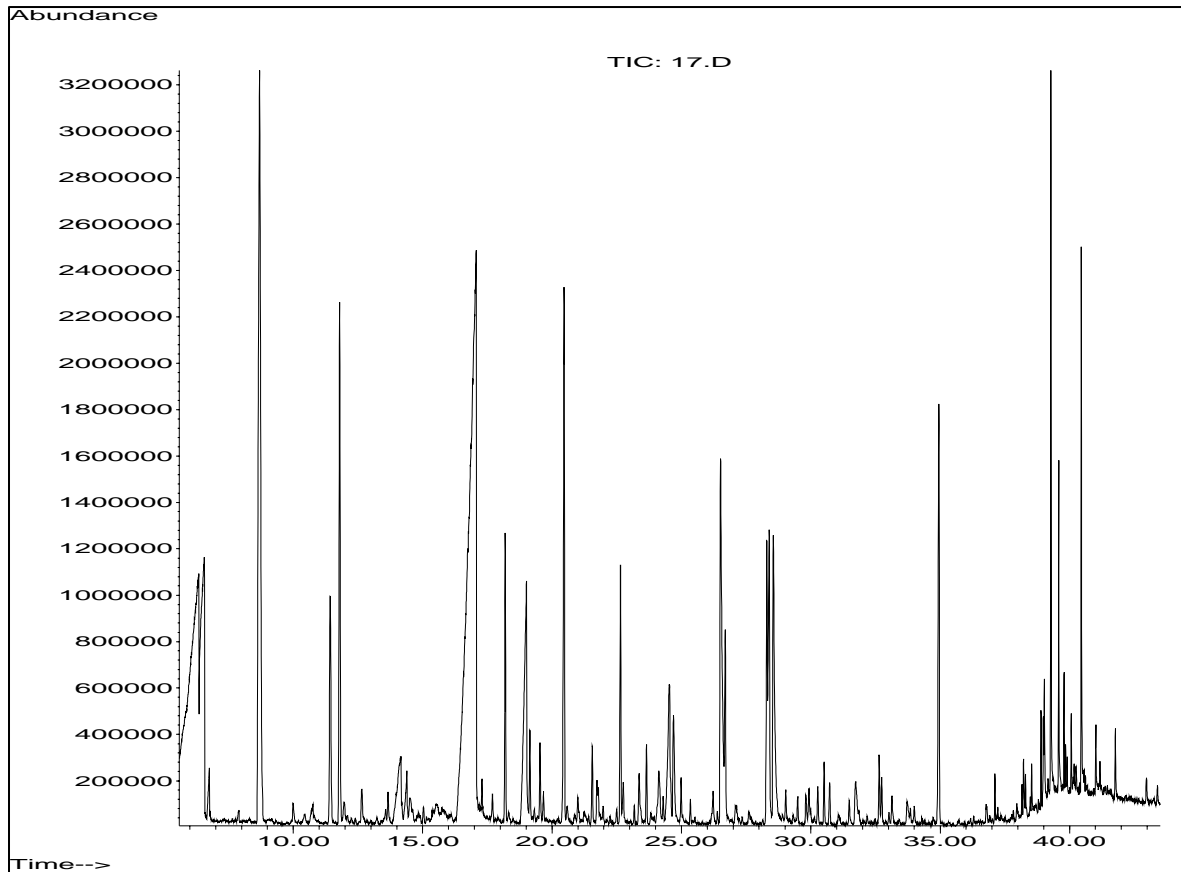
Forskjellen i toksisitet i ubehandlet prøve og den hvor utfellingen ved pH 2 er fjernet viser at det meste av toksisiteten skyldes stoffer som felles ut i surt miljø. TOC-analysene viser at ca. 70 % av det organiske materialet kan felles ut ved pH 2. De resterende 30 % som blir igjen i løsning står for et mindre bidrag til toksisiteten. Dersom det er behov for en nærmere identifisering av den eller de toksiske komponenten(e) bør man ta utgangspunkt i den brune utfellingen og SPE-ekstraktet ved pH 2. Først må toksisiteten av dette materialet løst i rent vann bestemmes. Prøven må deretter fraksjoneres og fraksjonene testes for toksisitet. Den eller de isolerte toksiske fraksjonene kan så analyseres med LC-MSMS og GC-TOFMS.



Figur 1. Toksisitet (uttrykt som TU) og TOC i Herøya grunnvannsprøve 502 etter fase 1 TIE-manipuleringer.



Figur 2. Flow injection positiv ESI mass spektrum av Herøya grunnvannsprøve 502



Figur. 3. GC-MS kromatogram av SPE-ekstrakt ved pH 2 av grunnvannsprøve 502 fra Herøya.

4. Konklusjon

Den forenklede Fase 1 TIE-analysen tyder sterkt på at basiske organiske komponenter som er lite løselige ved pH 2 er årsaken til toksisiteten i grunnvannsprøven fra brønn 502. En nærmere identifisering av den eller de aktuelle forbindelsene vil sannsynligvis kunne foretas ved bioassay-styrt fraksjonering for å isolere de spesifikke forbindelsene for kjemisk analyse. Behovet for å gjennomføre ytterligere forsøk med identifisering må vurderes på grunnlag av risiko for spredning av grunnvann fra området til fjorden.

5. Referanser

Kolstad et al. 2005: Avklaring av risiko fra forurenset grunn på Herøya. Supplerende undersøkelse juni og august 2005. NGI rapport 20031478-5.

Källqvist, T. 2005a: Toksisitetstester av grunnvannsprøver fra Herøya, juni og august 2005. NIVA Rapport 5070-2005

Källqvist, T. 2005b: Toksisitetstester av grunnvannsprøver fra Herøya, oktober 2005. NIVA Testrapport B468/1-3.

Vedlegg 1
MICROTOX-tester



Microtox- tester av Grunnvansprøve 502 - Herøya

Generelt om Microtox

Microtox er en biotest hvor en måler hemmingen av lysutsendelse fra den marine bakterien *Vibrio fischeri*. Bakterien er en marin organisme med evne til å sende ut lys. Det antas at prosessen som regulerer lysutsendelse er direkte koblet til respirasjon. En reduksjon i lysutsendelse betyr en reduksjon i biologisk aktivitet og indikerer en giftvirkning av prøven. I forsøket lages det en fortynningsrekke med 2 % -saltløsning og hemmingen av lysutsendelse undersøkes i fortynningen etter 5 og 15 minutter.

Med Microtox måler en giftighet ovenfor én bakterie, og den målte giftigheten kan ikke uten videre overføres til andre organismer som krepsdyr og fisk. Imidlertid er testen, sammenlignet med andre biologiske tester som test med fisk eller krepsdyr, like eller mer følsom for organiske forbindelser, men noe mindre sensitiv ovenfor uorganiske stoffer som metaller.

Hvordan angis giftigheten?

Giftigheten i biologiske tester som tester med overlevelse av en testorganisme, uttrykkes ofte som EC_{50} -verdi. EC_{50} betyr den konsentrasjonen av en prøve som fører til 50 % av en målt effekt blant testorganismene. For Microtox betyr dette 50 % reduksjon i lysutsendelse eller 50 % dødelighet av bakterien. Når en tester giftigheten for kjemikalier angir man EC_{50} -verdien i mg/l eller $\mu\text{g/l}$. Dette er ikke mulig for en prøve der et ukjent antall forbindelser virker giftig, f.eks i en sigevannsprøve. Her angir man isteden EC_{50} -verdien i %, noe som angir andelen av en prøve i en fortynning som fører til 50 % effekt. En EC_{50} på 10 % betyr dermed at 50 % av organismene blir skadet i en fortynning som inneholder 10 % av den målte prøven. For lite giftige prøver kan det være hensiktsmessig å uttrykke giftighet av prøven som en EC_{10} -verdi i tillegg til EC_{50} -verdien. EC_{10} betyr den konsentrasjonen av en prøve som fører til 10 % av en målt effekt blant testorganismene.

Resultater

For samtlige prøver var pH svært høy. pH ble derfor justert før forsøkene startet slik at den lå innenfor det tolererbare området for *Vibrio fischeri* hvilket er fra pH 6 til 8. Videre var flere av prøvene sterkt farget. Sterk farge kan forstyrre målingene slik at responsen som registreres blir sterkere enn det som faktisk er tilfellet, fordi lysutsendelsen hemmes. Dette er lite problematisk hvis fargen er ubetydelig i konsentrasjonsområdet hvor EC_{50} blir bestemt å være. I dette tilfellet var imidlertid flere prøver farget i EC_{50} området. Prøvene dette gjelder er merket av i tabellen nedenfor.

Resultater fra Microtox gjennomført på 8 ulike vannprøver

Prøve	EC ₁₀ (95 % konf. int.)	EC ₅₀ (95 % konf. int)	Betydelig farge
Neat	2,55 % (2,23 – 2,92)	11,59 % (10,95-12,27)	X
A.c.	12,31 % (7,89-19,20)	59,37 % (52,58-67,04)	X
SPE pH 2	>> 100 %	>> 100 %	
SPE pH 7	1,71 % (1,51-1,95)	6,90 % (6,15-7,75)	X
SPE pH 12	13,73 % (11,48-16,42)	39,30 % (36,29-42,57)	X
pH 2 adjusted	15,96 % (13,91-18,32)	65,07 (61,86-68,45)	
Air pH 2	5,41 % (4,90-5,97)	22,84 % (22,02-23,69)	X
Air pH 12	13,73 % (11,48-16,42)	39,30 % (36,29-42,57)	X

I metodebeskrivelser anbefales det å korrigere for fargede prøver ved å benytte en ikke-giftig løsning med tilsvarende farge. Humussyrer blir ofte benyttet for fargekorreksjon, men er kjent for også å være giftig for *Vibrio fischeri*. Da det ikke er usannsynlig at fargen i prøvene som undersøkes her skyldes nettopp humussyrer ble en humussyre fra Sigma brukte som fargekorreksjon. EC₅₀ ble bestemt for Sigma humussyren (17,9 µg/L (konf. int.: 13,3 – 24,1)). Deretter ble det laget en standardkurve for absorbans av humussyren ved bølgelengde 350 nm i et spektrofotometer. Hver av de 8 prøvene ble så blandet ut til nøyaktig EC₅₀ og EC₁₀ konsentrasjoner, og absorbansen målt. Fargen på prøvene ble deretter relatert til standardkurven for humussyrer. Dersom fargen i prøvene skyldes humussyrer kan dette gi et mål på hvor stor andel av toksisiteten som skyldes farge og effekten av humussyrer. Det er dessverre ikke mulig å si hvor stor andel av effekten som bare skyldes farge.

Standardkurven for absorbans ved ulike konsentrasjoner av humussyre og tabell med absorbans for prøvene ved EC₁₀ og EC₅₀ er gitt i figuren og tabellen nedenfor:

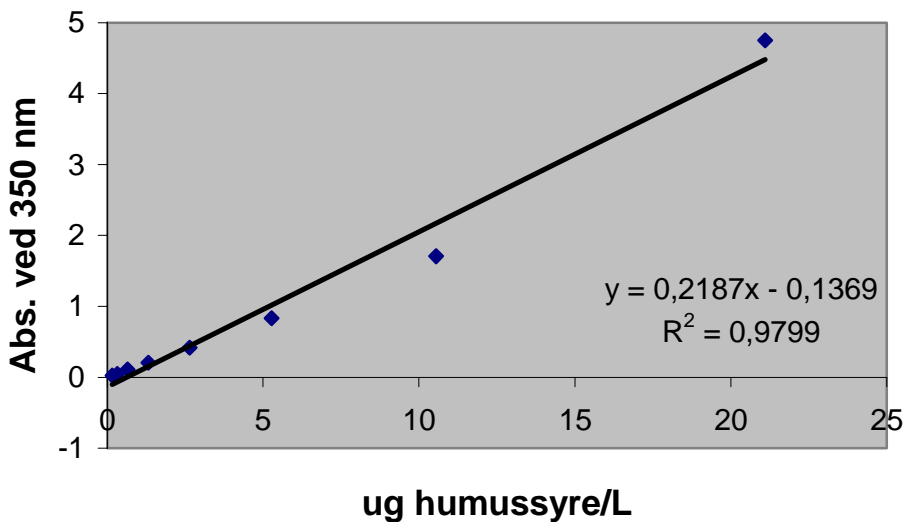


Fig. 1. Standardkurve for absorbans av Sigma humussyre ved 350 nm, målt i spektrofotometer.

Tabell. Absorbans ved EC₅₀ og EC₁₀ for prøver fra Herøya

Prøve	Absorbans ved EC ₅₀	Absorbans ved EC ₁₀	Abs. Prøve-EC ₅₀ /Abs. Humus-EC ₅₀ *100 %
A.c.	3,1	1,035	82 %
Neat	1,7	0,52	46 %
	5		
Air pH 2	1,025	0,27	27 %
Air pH 12	1,995	0,62	53 %
SPE pH 7	0,7	0,275	20 %
	4		
SPE pH 12	4,3	1,555	115 %
	5		
Humussyre (basert på std.kurven)	3,774	0,420	100 %

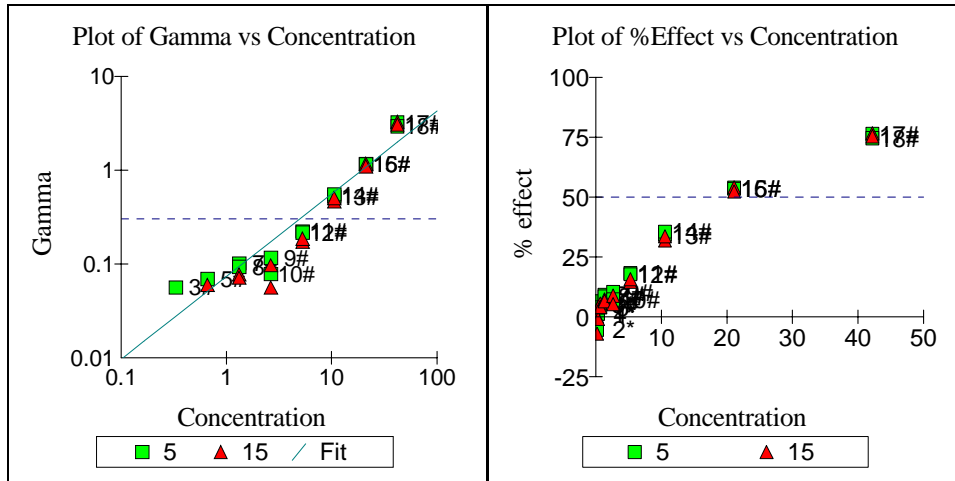
Konklusjon

For to av prøvene var det ingen betydelig påvirkning fra farge, og dette gjalt prøvene "SPE pH 2" og "pH 2 adjusted". SPE pH 2 var i tillegg den eneste av prøvene som ikke viste noe tegn til toksisk effekt i testen. Den eneste prøven som viste høyere giftighet enn den ubehandlede prøven (Neat) var "SPE pH 7". De ytterligere prøvene viste moderat giftighet, med EC₅₀ verdier mellom 23 og 65 %. I 5 av 8 prøver kan innholdet av humussyrer forklare over 50 % av den toksiske effekten som er målt. I prøvene "Air pH 2" og "SPE pH 7" kan imidlertid bare hhv. 27 % og 20 % av toksisiteten forklares av humussyrer.



Rådata Microtox®

Prøve: Humussyre (Sigma)



Sample	Conc (%)	I _o	Data etter 5 minutter			Data etter 15 minutter		
			I _t	Gamma	% effect	I _t	Gamma	% effect
Control	0.000	95.77	101.98	1.065 #		105.29	1.099 #	
Control	0.000	94.58	104.21	1.102 #		109.37	1.156 #	
1	0.1648	94.37	101.12	0.0110 *	1.090%	106.21	0.0021 *	0.2152%
2	0.1648	89.74	102.33	-0.0499 *	-5.258%	108.35	-0.0658 *	-7.047%
3	0.3297	96.15	98.62	0.0562 #	5.321%	104.05	0.0422 *	4.054%
4	0.3297	92.38	98.84	0.0125 *	1.237%	105.10	-0.0086 *	-0.8690%
5	0.6594	94.41	95.68	0.0689 #	6.450%	100.49	0.0596 #	5.629%
6	0.6594	92.28	95.97	0.0416 *	4.001%	99.70	0.0439 *	4.210%
7	1.319	92.70	91.15	0.1018 #	9.236%	97.03	0.0775 #	7.198%
8	1.319	93.94	93.09	0.0932 #	8.527%	98.91	0.0712 #	6.648%
9	2.638	92.62	89.88	0.1164 #	10.42%	95.23	0.0969 #	8.840%
10	2.638	91.03	91.47	0.0781 #	7.246%	97.22	0.0560 #	5.310%
11	5.275	91.20	80.77	0.2232 #	18.25%	87.74	0.1724 #	14.70%
12	5.275	92.97	82.79	0.2165 #	17.80%	88.40	0.1862 #	15.70%
13	10.55	93.58	66.62	0.5217 #	34.29%	71.90	0.4680 #	31.88%
14	10.55	95.55	66.67	0.5526 #	35.59%	71.55	0.5062 #	33.66%
15	21.10	92.60	46.28	1.168 #	53.87%	47.93	1.179 #	54.11%
16	21.10	91.70	46.16	1.152 #	53.53%	49.21	1.102 #	52.42%
17	42.20	93.83	23.95	3.244 #	76.44%	24.68	3.288 #	76.68%
18	42.20	92.29	25.33	2.947 #	74.67%	25.60	3.066 #	75.41%

- used in calculation; * - invalid data; D - deleted from calcs.

Calculations on 5 Mins data:

EC10 Concentration: 1.755ug/L (95% confidence range: 1.263 to 2.439)

95% Confidence Factor: 1.389

Estimating Equation: $\text{LOG C} = 1.041 \times \text{LOG G} + 1.238$
Coeff. of Determination (R^2): 0.9187
Slope: 0.8824
Correction Factor: 1.083

95% Confidence Factor: 1.420
Estimating Equation: $\text{LOG C} = 1.041 \times \text{LOG G} + 1.238$
Coeff. of Determination (R^2): 0.9187
Slope: 0.8824
Correction Factor: 1.083

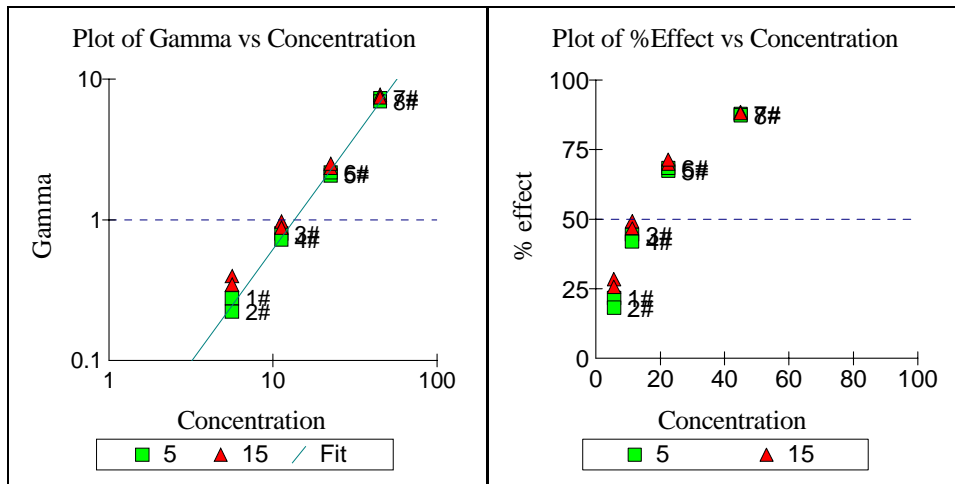
EC50 Concentration: 17.29 $\mu\text{g/L}$ (95% confidence range: 12.18 to 24.56)

Calculations on 15 Mins data:

EC10 Concentration: 2.544 $\mu\text{g/L}$ (95% confidence range: 1.924 to 3.364)
95% Confidence Factor: 1.322
Estimating Equation: $\text{LOG C} = 0.8874 \times \text{LOG G} + 1.252$
Coeff. of Determination (R^2): 0.9309
Slope: 1.049
Correction Factor: 1.128

EC50 Concentration: 17.88 $\mu\text{g/L}$ (95% confidence range: 13.27 to 24.09)
95% Confidence Factor: 1.347
Estimating Equation: $\text{LOG C} = 0.8874 \times \text{LOG G} + 1.252$
Coeff. of Determination (R^2): 0.9309
Slope: 1.049
Correction Factor: 1.128

Prøve: Neat



Sample	Conc (%)	I _o	Data etter 5 minutter			Data etter 15 minutter		
			I _t	Gamma	% effect	I _t	Gamma	% effect
Control	0.000	97.68	79.12	0.8100 #		84.78	0.8679 #	
Control	0.000	96.61	80.45	0.8327 #		84.12	0.8707 #	
1	5.625	97.87	62.93	0.2774 #	21.72%	60.86	0.3980 #	28.47%
2	5.625	102.14	68.65	0.2221 #	18.17%	65.96	0.3462 #	25.71%
3	11.25	97.92	44.70	0.7993 #	44.42%	43.18	0.9714 #	49.27%
4	11.25	99.42	47.38	0.7235 #	41.98%	46.01	0.8785 #	46.77%
5	22.50	92.55	24.78	2.068 #	67.40%	24.13	2.334 #	70.01%
6	22.50	97.45	25.24	2.171 #	68.47%	24.19	2.502 #	71.45%
7	45.00	103.54	10.25	7.297 #	87.95%	10.29	7.747 #	88.57%
8	45.00	83.51	8.64	6.939 #	87.40%	8.60	7.442 #	88.15%

- used in calculation; * - invalid data; D - deleted from calcs.

Calculations on 5 Mins data:

EC10 Concentration:3.442% (95%
confidence range: 3.106 to 3.815)
95% Confidence Factor: 1.108
EC10 value was calculated from
extrapolated data.
Estimating Equation:LOG C =0.6226 x
LOG G +1.131
Coeff. of Determination (R²):0.9964
Slope: 1.600
Correction Factor: 0.8214

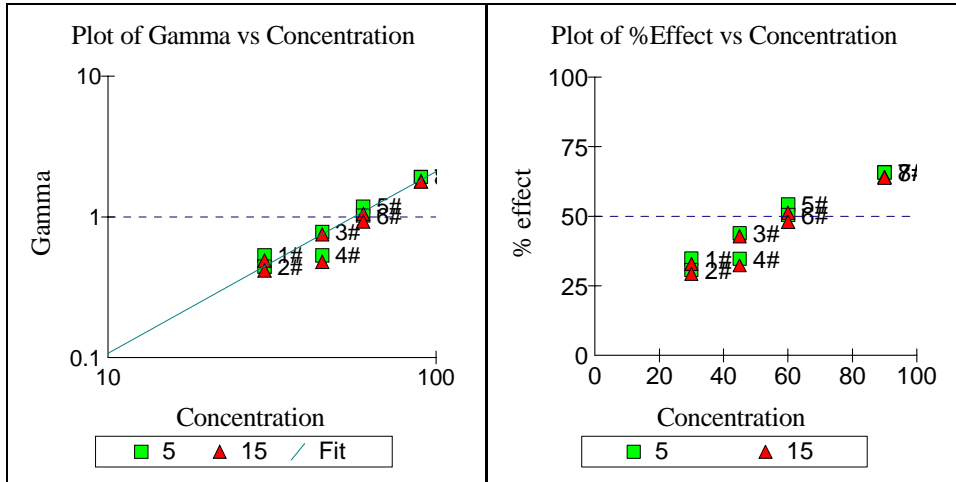
EC50 Concentration:13.52% (95%
confidence range: 12.89 to 14.18)
95% Confidence Factor: 1.049
Estimating Equation:LOG C =0.6226 x
LOG G +1.131
Coeff. of Determination (R²):0.9964
Slope: 1.600
Correction Factor: 0.8214

Calculations on 15 Mins data:

EC10 Concentration:2.552% (95%
confidence range: 2.228 to 2.923)
95% Confidence Factor: 1.145
EC10 value was calculated from
extrapolated data.
Estimating Equation:LOG C =0.6888 x
LOG G +1.064
Coeff. of Determination (R²):0.9953
Slope: 1.445
Correction Factor: 0.8693

EC50 Concentration:11.59% (95%
confidence range: 10.95 to 12.27)
95% Confidence Factor: 1.059
Estimating Equation:LOG C =0.6888 x
LOG G +1.064
Coeff. of Determination (R²):0.9953
Slope: 1.445
Correction Factor: 0.8693

Prøve: A.c.



Sample	Conc (%)	I _o	Data etter 5 minutter			Data etter 15 minutter		
			I _t	Gamma	% effect	I _t	Gamma	% effect
Control	0.000	94.66	117.03	1.236 #		113.69	1.201 #	
Control	0.000	99.28	121.37	1.223 #		117.74	1.186 #	
1	30.00	111.04	88.99	0.5340 #	34.81%	88.92	0.4904 #	32.90%
2	30.00	99.28	84.57	0.4433 #	30.71%	83.72	0.4153 #	29.34%
3	45.00	106.45	73.43	0.7823 #	43.89%	72.61	0.7497 #	42.85%
4	45.00	90.11	72.31	0.5320 #	34.73%	72.74	0.4785 #	32.36%
5	60.00	112.18	63.16	1.184 #	54.20%	65.31	1.050 #	51.22%
6	60.00	94.58	57.54	1.021 #	50.52%	58.68	0.9237 #	48.02%
7	90.00	114.33	47.92	1.933 #	65.91%	48.87	1.792 #	64.19%
8	90.00	115.37	48.54	1.922 #	65.78%	49.60	1.776 #	63.98%

- used in calculation; * - invalid data; D - deleted from calcs.

Calculations on 5 Mins data:

EC10 Concentration:11.55% (95%
confidence range: 7.474 to 17.85)
95% Confidence Factor: 1.545
EC10 value was calculated from
extrapolated data.
Estimating Equation:LOG C =0.7177 x
LOG G +1.747
Coeff. of Determination (R²):0.9270
Slope: 1.292
Correction Factor: 1.229

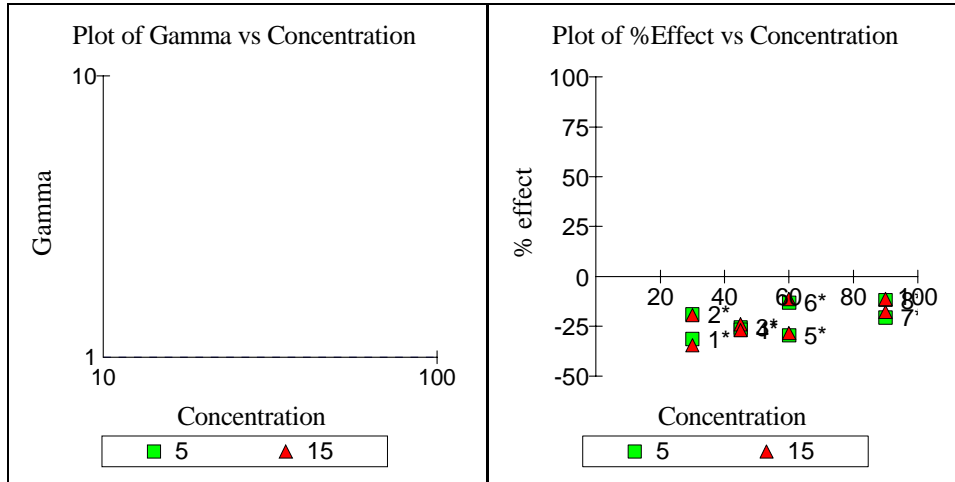
EC50 Concentration:55.91% (95%
confidence range: 50.07 to 62.43)
95% Confidence Factor: 1.117
Estimating Equation:LOG C =0.7177 x
LOG G +1.747
Coeff. of Determination (R²):0.9270
Slope: 1.292
Correction Factor: 1.229

Calculations on 15 Mins data:

EC10 Concentration:12.31% (95%
confidence range: 7.887 to 19.20)
95% Confidence Factor: 1.560
EC10 value was calculated from
extrapolated data.
Estimating Equation:LOG C =0.7163 x
LOG G +1.774
Coeff. of Determination (R²):0.9181
Slope: 1.282
Correction Factor: 1.193

EC50 Concentration:59.37% (95%
confidence range: 52.58 to 67.04)
95% Confidence Factor: 1.129
Estimating Equation:LOG C =0.7163 x
LOG G +1.774
Coeff. of Determination (R²):0.9181
Slope: 1.282
Correction Factor: 1.193

Prøve: pH 2 SPE



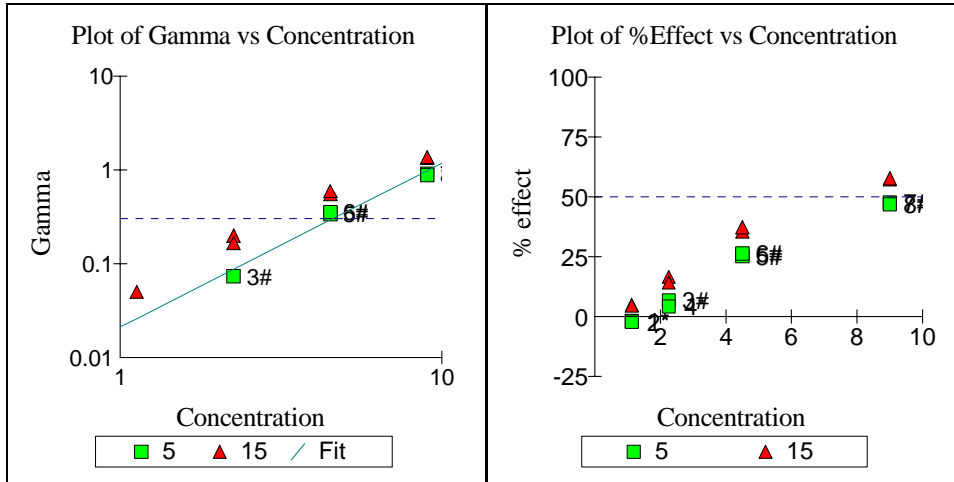
Sample	Conc (%)	Io	Data etter 5 minutter			Data etter 15 minutter		
			It	Gamma	% effect	It	Gamma	% effect
Control	0.000	96.30	98.56	1.023 #		105.04	1.091 #	
Control	0.000	93.96	101.12	1.076 #		103.71	1.104 #	
1	30.00	82.18	113.39	-0.2391 *	-31.43%	121.24	-0.2562 *	-34.45%
2	30.00	93.50	116.70	-0.1589 *	-18.89%	122.52	-0.1626 *	-19.42%
3	45.00	89.34	117.80	-0.2038 *	-25.60%	121.52	-0.1933 *	-23.96%
4	45.00	86.61	115.21	-0.2108 *	-26.71%	120.65	-0.2123 *	-26.95%
5	60.00	81.28	110.48	-0.2276 *	-29.47%	114.55	-0.2214 *	-28.44%
6	60.00	98.39	116.87	-0.1162 *	-13.14%	120.23	-0.1021 *	-11.37%
7	90.00	81.81	103.58	-0.1708 *	-20.60%	105.72	-0.1509 *	-17.77%
8	90.00	86.63	101.67	-0.1055 *	-11.79%	105.86	-0.1021 *	-11.37%

- used in calculation; * - invalid data; D - deleted from calcs.

Calculations on 5 and 15 Mins data:

Statistiske beregninger kan ikke gjennomføres, da det ikke er observert effekt av prøven. EC₅₀ og EC₁₀ er >> 100 %.

Prøve: pH 7 SPE



Sample	Conc (%)	Io	Data etter 5 minutter			Data etter 15 minutter		
			It	Gamma	% effect	It	Gamma	% effect
Control	0.000	96.39	78.90	0.8185 #		79.74	0.8273 #	
Control	0.000	100.41	83.05	0.8271 #		82.90	0.8256 #	
1	1.125	103.70	86.87	-0.0177 *	-1.808%	81.61	0.0501 #	4.774%
2	1.125	96.39	81.00	-0.0208 *	-2.128%	75.98	0.0484 *	4.620%
3	2.250	105.75	81.05	0.0735 #	6.854%	72.84	0.1998 #	16.66%
4	2.250	89.51	70.51	0.0445 *	4.265%	63.47	0.1655 #	14.20%
5	4.500	100.94	62.13	0.3368 #	25.20%	53.83	0.5497 #	35.47%
6	4.500	103.47	62.72	0.3574 #	26.33%	53.59	0.5957 #	37.33%
7	9.000	106.69	45.86	0.9143 #	47.76%	37.61	1.344 #	57.35%
8	9.000	82.79	36.16	0.8839 #	46.92%	28.89	1.368 #	57.78%

- used in calculation; * - invalid data; D - deleted from calcs.

Calculations on 5 Mins data:

EC10 Concentration:2.629% (95%
confidence range: 2.048 to 3.373)
95% Confidence Factor: 1.283
Estimating Equation:LOG C =0.5592 x
LOG G +0.9533
Coeff. of Determination (R²):0.9750
Slope: 1.744
Correction Factor: 0.8228

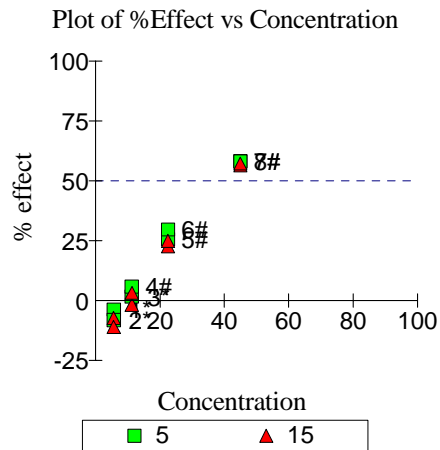
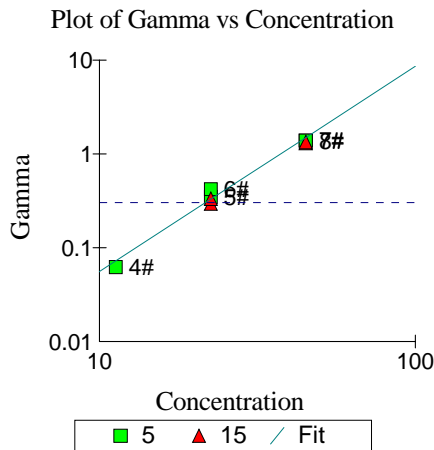
EC50 Concentration:8.981% (95%
confidence range: 7.197 to 11.21)
95% Confidence Factor: 1.248
Estimating Equation:LOG C =0.5592 x
LOG G +0.9533
Coeff. of Determination (R²):0.9750
Slope: 1.744
Correction Factor: 0.8228

Calculations on 15 Mins data:

EC10 Concentration:1.714% (95%
confidence range: 1.508 to 1.948)
95% Confidence Factor: 1.137
Estimating Equation:LOG C =0.6340 x
LOG G +0.8390
Coeff. of Determination (R²):0.9888
Slope: 1.560
Correction Factor: 0.8264

EC50 Concentration:6.902% (95%
confidence range: 6.147 to 7.750)
95% Confidence Factor: 1.123
Estimating Equation:LOG C =0.6340 x
LOG G +0.8390
Coeff. of Determination (R²):0.9888
Slope: 1.560
Correction Factor: 0.8264

Prøve: pH 12 SPE



Sample	Conc (%)	I _o	Data etter 5 minutter			Data etter 15 minutter		
			I _t	Gamma	% effect	I _t	Gamma	% effect
Control	0.000	96.55	77.23	0.7999 #		68.08	0.7051 #	
Control	0.000	97.07	78.49	0.8086 #		72.42	0.7461 #	
1	5.625	94.10	78.46	-0.0354 *	-3.674%	73.24	-0.0677 *	-7.267%
2	5.625	102.26	88.92	-0.0751 *	-8.120%	82.37	-0.0992 *	-11.01%
3	11.25	88.20	69.74	0.0171 *	1.684%	65.06	-0.0163 *	-1.661%
4	11.25	101.03	76.49	0.0622 #	5.862%	70.96	0.0330 *	3.201%
5	22.50	91.38	54.62	0.3455 #	25.68%	51.27	0.2932 #	22.68%
6	22.50	96.14	54.35	0.4226 #	29.71%	52.31	0.3336 #	25.01%
7	45.00	124.59	41.86	1.394 #	58.22%	39.24	1.304 #	56.59%
8	45.00	118.59	39.96	1.387 #	58.10%	36.74	1.342 #	57.30%

- used in calculation; * - invalid data; D - deleted from calcs.

Calculations on 5 Mins data:

EC10 Concentration:13.82% (95%
confidence range: 11.50 to 16.62)
95% Confidence Factor: 1.202
Estimating Equation:LOG C =0.4505 x
LOG G +1.571
Coeff. of Determination (R²):0.9849
Slope: 2.186
Correction Factor: 0.8042

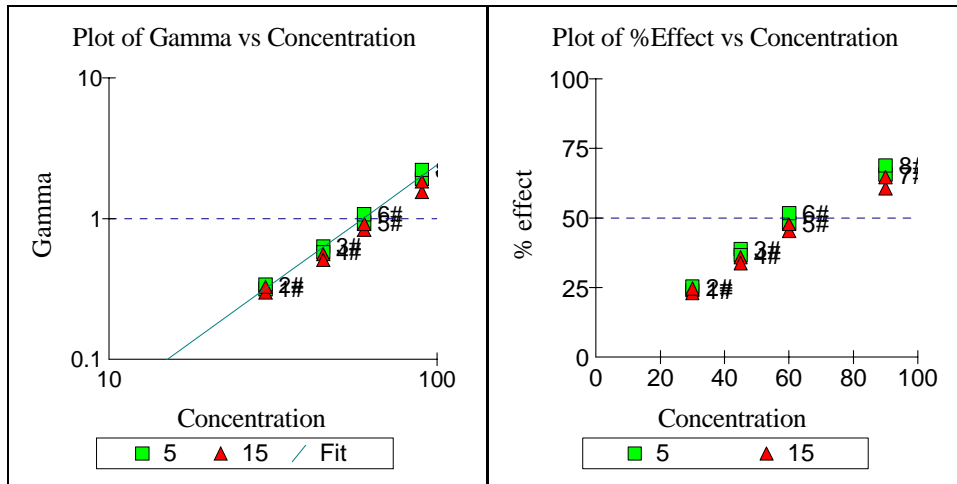
EC50 Concentration:37.20% (95%
confidence range: 32.23 to 42.93)
95% Confidence Factor: 1.154
Estimating Equation:LOG C =0.4505 x
LOG G +1.571
Coeff. of Determination (R²):0.9849
Slope: 2.186
Correction Factor: 0.8042

Calculations on 15 Mins data:

EC10 Concentration:13.73% (95%
confidence range: 11.48 to 16.42)
95% Confidence Factor: 1.196
EC10 value was calculated from
extrapolated data.
Estimating Equation:LOG C =0.4786 x
LOG G +1.594
Coeff. of Determination (R²):0.9958
Slope: 2.081
Correction Factor: 0.7256

EC50 Concentration:39.30% (95%
confidence range: 36.29 to 42.57)
95% Confidence Factor: 1.083
Estimating Equation:LOG C =0.4786 x
LOG G +1.594
Coeff. of Determination (R²):0.9958
Slope: 2.081
Correction Factor: 0.7256

Prøve: pH 2 Adjusted



Sample	Conc (%)	Io	Data etter 5 minutter			Data etter 15 minutter		
			It	Gamma	% effect	It	Gamma	% effect
Control	0.000	98.78	97.59	0.9880 #		101.41	1.027 #	
Control	0.000	100.14	102.81	1.027 #		106.88	1.067 #	
1	30.00	86.30	66.12	0.3147 #	23.94%	69.64	0.2974 #	22.92%
2	30.00	96.65	72.67	0.3397 #	25.36%	76.23	0.3274 #	24.67%
3	45.00	92.77	57.20	0.6337 #	38.79%	62.26	0.5600 #	35.90%
4	45.00	89.78	57.35	0.5769 #	36.59%	62.25	0.5100 #	33.77%
5	60.00	89.71	46.75	0.9330 #	48.27%	51.29	0.8312 #	45.39%
6	60.00	96.07	46.65	1.074 #	51.79%	52.48	0.9166 #	47.82%
7	90.00	85.21	29.52	1.908 #	65.61%	35.06	1.545 #	60.70%
8	90.00	100.37	31.39	2.221 #	68.95%	37.10	1.832 #	64.69%

- used in calculation; * - invalid data; D - deleted from calcs.

Calculations on 5 Mins data:

EC10 Concentration:16.23% (95%
confidence range: 14.39 to 18.31)
95% Confidence Factor: 1.128
EC10 value was calculated from
extrapolated data.
Estimating Equation:LOG C =0.5897 x
LOG G +1.773
Coeff. of Determination (R²):0.9905
Slope: 1.680
Correction Factor: 1.007

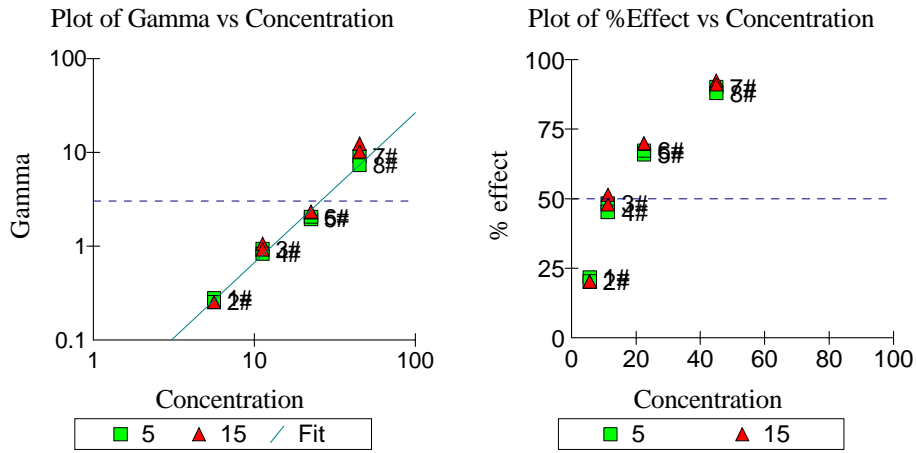
EC50 Concentration:59.32% (95%
confidence range: 56.92 to 61.81)
95% Confidence Factor: 1.042
Estimating Equation:LOG C =0.5897 x
LOG G +1.773
Coeff. of Determination (R²):0.9905
Slope: 1.680
Correction Factor: 1.007

Calculations on 15 Mins data:

EC10 Concentration:15.96% (95%
confidence range: 13.91 to 18.32)
95% Confidence Factor: 1.148
EC10 value was calculated from
extrapolated data.
Estimating Equation:LOG C =0.6396 x
LOG G +1.813
Coeff. of Determination (R²):0.9879
Slope: 1.545
Correction Factor: 1.047

EC50 Concentration:65.07% (95%
confidence range: 61.86 to 68.45)
95% Confidence Factor: 1.052
Estimating Equation:LOG C =0.6396 x
LOG G +1.813
Coeff. of Determination (R²):0.9879
Slope: 1.545
Correction Factor: 1.047

Prøve: Air pH 2



Sample	Conc (%)	I _o	Data etter 5 minutter			Data etter 15 minutter		
			I _t	Gamma	% effect	I _t	Gamma	% effect
Control	0.000	96.53	80.95	0.8386 #		73.58	0.7623 #	
Control	0.000	96.85	83.54	0.8626 #		76.35	0.7883 #	
1	5.625	86.57	57.59	0.2786 #	21.79%	53.58	0.2526 #	20.17%
2	5.625	86.38	58.57	0.2545 #	20.28%	53.45	0.2529 #	20.19%
3	11.25	90.27	39.65	0.9365 #	48.36%	33.97	1.060 #	51.46%
4	11.25	110.07	51.23	0.8275 #	45.28%	44.42	0.9211 #	47.95%
5	22.50	89.48	25.92	1.936 #	65.94%	20.99	2.305 #	69.74%
6	22.50	122.31	33.98	2.062 #	67.34%	28.49	2.328 #	69.96%
7	45.00	130.28	10.90	9.166 #	90.16%	7.57	12.34 #	92.51%
8	45.00	114.36	11.72	7.300 #	87.95%	7.89	10.24 #	91.10%

- used in calculation; * - invalid data; D - deleted from calcs.

Calculations on 5 Mins data:

EC10 Concentration:3.334% (95%
confidence range: 2.741 to 4.055)
95% Confidence Factor: 1.216
EC10 value was calculated from
extrapolated data.
Estimating Equation:LOG C =0.6170 x
LOG G +1.112
Coeff. of Determination (R²):0.9875
Slope: 1.601
Correction Factor: 0.8506

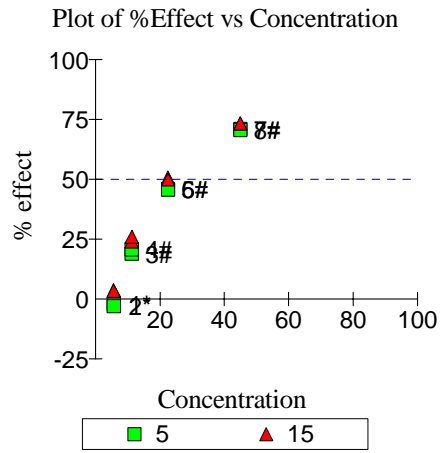
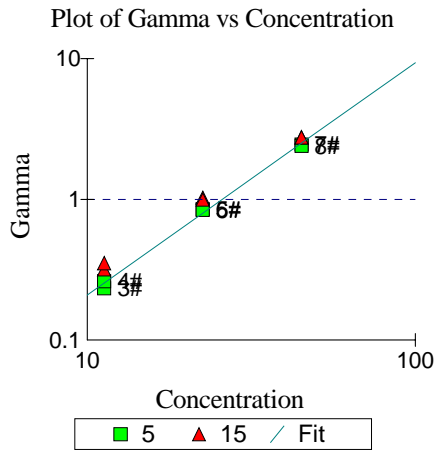
EC50 Concentration:12.93% (95%
confidence range: 11.82 to 14.15)
95% Confidence Factor: 1.094
Estimating Equation:LOG C =0.6170 x
LOG G +1.112
Coeff. of Determination (R²):0.9875
Slope: 1.601
Correction Factor: 0.8506

Calculations on 15 Mins data:

EC10 Concentration:3.587% (95%
confidence range: 2.950 to 4.362)
95% Confidence Factor: 1.216
EC10 value was calculated from
extrapolated data.
Estimating Equation:LOG C =0.5589 x
LOG G +1.088
Coeff. of Determination (R²):0.9865
Slope: 1.765
Correction Factor: 0.7753

EC50 Concentration:12.25% (95%
confidence range: 11.14 to 13.47)
95% Confidence Factor: 1.099
Estimating Equation:LOG C =0.5589 x
LOG G +1.088
Coeff. of Determination (R²):0.9865
Slope: 1.765
Correction Factor: 0.7753

Prøve: Air pH 12



Sample	Conc (%)	I _o	Data etter 5 minutter			Data etter 15 minutter		
			I _t	Gamma	% effect	I _t	Gamma	% effect
Control	0.000	97.57	80.17	0.8217 #		81.15	0.8317 #	
Control	0.000	96.45	82.51	0.8555 #		86.03	0.8920 #	
1	5.625	86.03	73.57	-0.0194 *	-1.979%	71.49	0.0371 *	3.579%
2	5.625	91.80	79.23	-0.0283 *	-2.922%	76.36	0.0361 *	3.484%
3	11.25	102.26	69.54	0.2331 #	18.91%	66.90	0.3174 #	24.09%
4	11.25	100.20	66.59	0.2618 #	20.75%	63.86	0.3523 #	26.05%
5	22.50	105.89	47.95	0.8518 #	46.00%	44.98	1.029 #	50.71%
6	22.50	108.23	49.29	0.8413 #	45.69%	46.76	0.9948 #	49.87%
7	45.00	112.65	27.29	2.462 #	71.11%	25.83	2.759 #	73.39%
8	45.00	115.02	28.32	2.406 #	70.64%	26.36	2.761 #	73.41%

- used in calculation; * - invalid data; D - deleted from calcs.

Calculations on 5 Mins data:

EC10 Concentration:6.837% (95%
confidence range: 6.153 to 7.597)
95% Confidence Factor: 1.111
EC10 value was calculated from
extrapolated data.
Estimating Equation:LOG C =0.6040 x
LOG G +1.411
Coeff. of Determination (R²):0.9967
Slope: 1.650
Correction Factor: 0.8386

EC50 Concentration:25.78% (95%
confidence range: 24.61 to 27.00)
95% Confidence Factor: 1.048
Estimating Equation:LOG C =0.6040 x
LOG G +1.411
Coeff. of Determination (R²):0.9967
Slope: 1.650
Correction Factor: 0.8386

Calculations on 15 Mins data:

EC10 Concentration:5.411% (95%
confidence range: 4.902 to 5.973)
95% Confidence Factor: 1.104
EC10 value was calculated from
extrapolated data.
Estimating Equation:LOG C =0.6554 x
LOG G +1.359
Coeff. of Determination (R²):0.9978
Slope: 1.522
Correction Factor: 0.8618

EC50 Concentration:22.84% (95%
confidence range: 22.02 to 23.69)
95% Confidence Factor: 1.037
Estimating Equation:LOG C =0.6554 x
LOG G +1.359
Coeff. of Determination (R²):0.9978
Slope: 1.522
Correction Factor: 0.8618

Vedlegg 2.

Kjemiske analyser

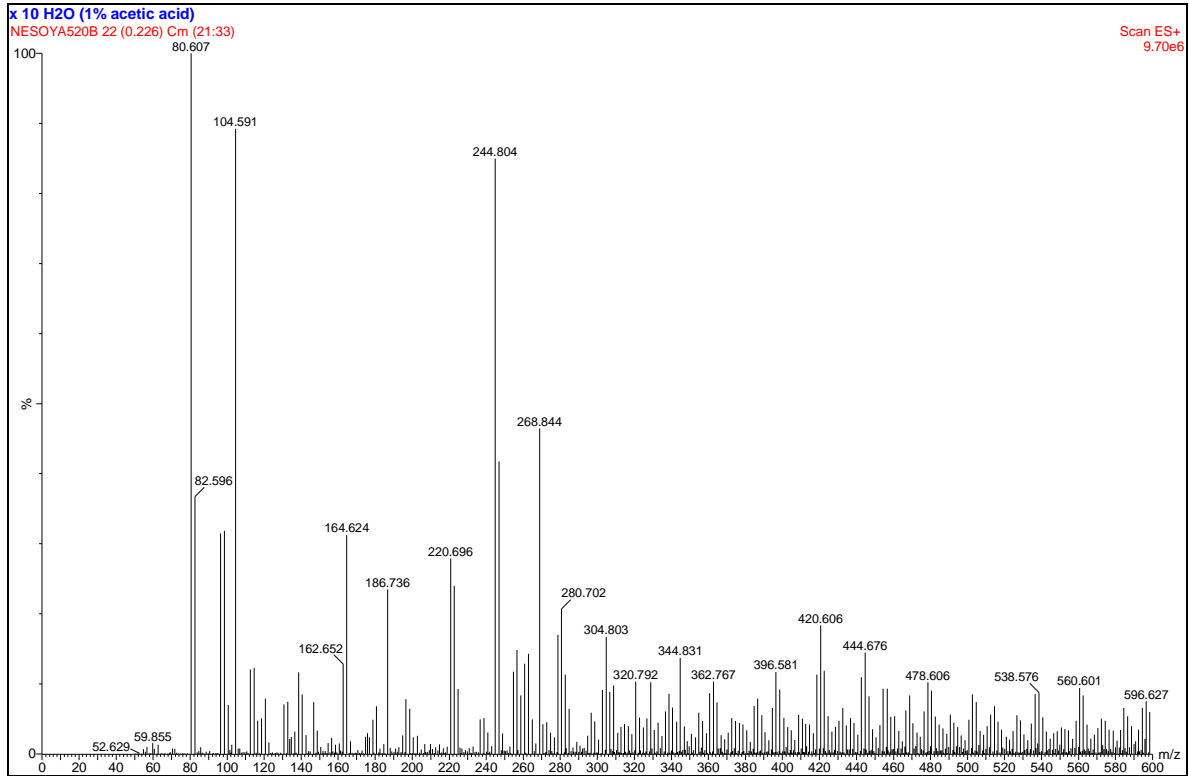


Figure 1 Flow injection positive ESI mass spectrum of Herøya ground water sample 502

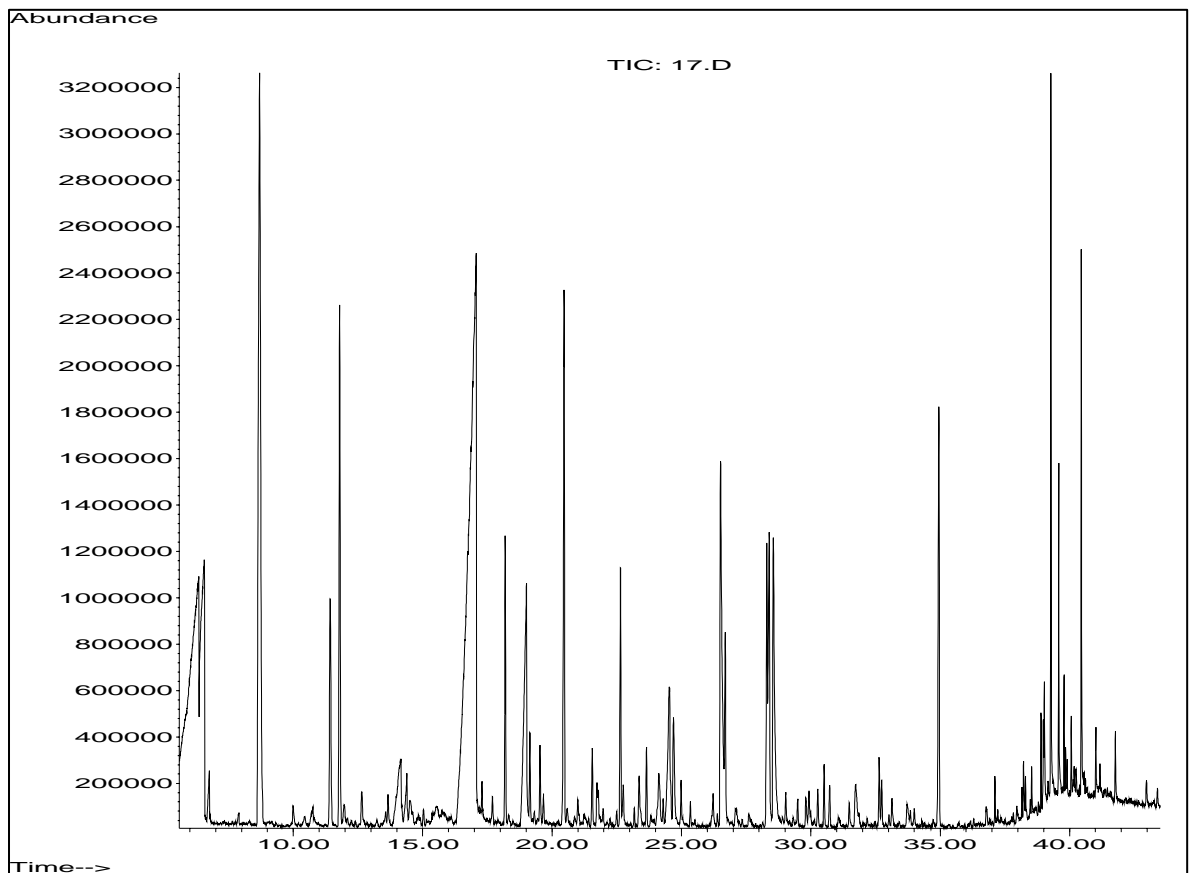


Figure 2 GC-MS chromatogram of Herøya ground water sample 502

Table 1 GC-MS automated mass spectral deconvolution output for Herøya 502

CAS	Name	R.T.	Purity	Amount
108952	Phenol	8.702	76 %	2.97 %
765708	1,2-Cyclopentanedione, 3-methyl-	9.999	75 %	0.07 %
106445	Phenol, 4-methyl-	11.433	93 %	1.04 %
108394	Phenol, 3-methyl-	11.433	93 %	1.04 %
95487	Phenol, 2-methyl-	11.433	93 %	1.04 %
90051	Phenol, 2-methoxy-	11.796	95 %	2.03 %
150765	Mequinol	11.796	95 %	2.03 %
613707	Phenol, 2-methoxy-, acetate	11.796	95 %	2.03 %
21835018	2-Cyclopenten-1-one, 3-ethyl-2-hydroxy-	12.645	70 %	0.11 %
105679	Phenol, 2,4-dimethyl-	13.573	63 %	0.04 %
95658	Phenol, 3,4-dimethyl-	13.573	63 %	0.04 %
108689	Phenol, 3,5-dimethyl-	13.573	63 %	0.04 %
95658	Phenol, 3,4-dimethyl-	13.575	47 %	0.02 %
105679	Phenol, 2,4-dimethyl-	13.575	47 %	0.02 %
108689	Phenol, 3,5-dimethyl-	13.575	47 %	0.02 %
464493	Bicyclo[2.2.1]heptan-2-one, 1,7,7-trimethyl-, (1R)-	13.67	72 %	0.09 %
76222	Camphor	13.67	72 %	0.09 %
21368683	Bicyclo[2.2.1]heptan-2-one, 1,7,7-trimethyl-, (□)-	13.67	72 %	0.09 %
1638228	Phenol, 4-butyl-	14.088	7.30 %	0.02 %
306230	Benzenepropanoic acid, □,4-dihydroxy-	14.088	7.30 %	0.02 %
14938353	Phenol, 4-pentyl-	14.088	7.30 %	0.02 %
EPA-253264	Heptanediamide, N,N'-di-benzoyloxy-	14.164	71 %	0.35 %
65850	Benzoic Acid	14.164	71 %	0.35 %
EPA-253253	Cyclobutane-1,1-dicarboxamide, N,N'-di-benzoyloxy-	14.164	71 %	0.35 %
124072	Octanoic Acid	14.398	71 %	0.17 %
10385781	Borneol	14.506	66 %	0.14 %
507700	Borneol	14.506	66 %	0.14 %
464459	Bicyclo[2.2.1]heptan-2-ol, 1,7,7-trimethyl-, (1S-endo)-	14.506	66 %	0.14 %
464459	Bicyclo[2.2.1]heptan-2-ol, 1,7,7-trimethyl-, (1S-endo)-	14.53	50 %	0.08 %
507700	Borneol	14.53	50 %	0.08 %
10385781	Borneol	14.53	50 %	0.08 %
124118	1-Nonene	14.904	54 %	0.01 %
3728572	Cyclopentane, 1-methyl-2-propyl-	14.904	54 %	0.01 %
112425	1-Undecanol	14.904	54 %	0.01 %
106489	Parachlorophenol	15.018	21 %	0.01 %
108430	Phenol, 3-chloro-	15.018	21 %	0.01 %
132905932	p-Chlorophenyl butylcarbamate	15.018	21 %	0.01 %
98555	3-Cyclohexene-1-methanol, □,□4-trimethyl-	15.039	61 %	0.04 %
10482561	3-Cyclohexene-1-methanol, □,□,4-trimethyl-, (S)-	15.039	61 %	0.04 %
EPA-157899	p-menth-1-en-8-ol	15.039	61 %	0.04 %
98555	3-Cyclohexene-1-methanol, □,□4-trimethyl-	15.042	63 %	0.05 %
10482561	3-Cyclohexene-1-methanol, □,□,4-trimethyl-, (S)-	15.042	63 %	0.05 %
EPA-157899	p-menth-1-en-8-ol	15.042	63 %	0.05 %
527606	Phenol, 2,4,6-trimethyl-	15.257	21 %	0.01 %
697825	Phenol, 2,3,5-trimethyl-	15.257	21 %	0.01 %
527548	Phenol, 3,4,5-trimethyl-	15.257	21 %	0.01 %
62016197	Octane, 6-ethyl-2-methyl-	15.368	42 %	0.02 %
7045718	Undecane, 2-methyl-	15.368	42 %	0.02 %
31081182	Nonane, 3-methyl-5-propyl-	15.368	42 %	0.02 %

675207	2-Piperidinone	15.437	56 %	0.04 %
EPA-197003	2-Pyrrolidinone, 4-methyl-	15.437	56 %	0.04 %
28525839	2-Pentenoic acid, 4-hydroxy-	15.437	56 %	0.04 %
13454596	n-Pentyl methylphosphonofluoridate	15.758	23 %	0.02 %
162085827	n-Heptyl methylphosphonofluoridate	15.758	23 %	0.02 %
2627352	Phosphoric acid, monododecyl ester	15.758	23 %	0.02 %
2613890	Propanedioic acid, phenyl-	17.078	92 %	2.82 %
103822	Benzeneacetic acid	17.078	92 %	2.82 %
19212272	3-Oxo-4-phenylbutyronitrile	17.078	92 %	2.82 %
99945	Benzoic acid, 4-methyl-	17.332	27 %	0.02 %
6976698	Benzoic acid, 4-methyl-, propyl ester	17.332	27 %	0.02 %
99047	Benzoic acid, 3-methyl-	17.332	27 %	0.02 %
120729	Indole	17.703	70 %	0.08 %
274408	Indolizine	17.703	70 %	0.08 %
270917	5H-1-Pyridine	17.703	70 %	0.08 %
7786610	2-Methoxy-4-vinylphenol	18.197	93 %	0.85 %
1450722	Ethanone, 1-(2-hydroxy-5-methylphenyl)-	18.197	93 %	0.85 %
875592	4-Hydroxy-2-methylacetophenone	18.197	93 %	0.85 %
7786610	2-Methoxy-4-vinylphenol	18.198	90 %	0.85 %
1450722	Ethanone, 1-(2-hydroxy-5-methylphenyl)-	18.198	90 %	0.85 %
875592	4-Hydroxy-2-methylacetophenone	18.198	90 %	0.85 %
501520	Benzenepropanoic acid	19.018	78 %	1.16 %
616751	Benzylmalonic acid	19.018	78 %	1.16 %
EPA-129400	4-Nitrosophenyl- \square -phenylpropionate	19.018	78 %	1.16 %
91101	Phenol, 2,6-dimethoxy-	19.151	79 %	0.26 %
2033898	Phenol, 3,4-dimethoxy-	19.151	79 %	0.26 %
13330659	2,4-Dimethoxyphenol	19.151	79 %	0.26 %
97530	Eugenol	19.321	28 %	0.02 %
EPA-284911	Acetyl eugenol	19.321	28 %	0.02 %
501199	3-Allyl-6-methoxyphenol	19.321	28 %	0.02 %
123080	Benzaldehyde, 4-hydroxy-	19.543	81 %	0.24 %
100834	Benzaldehyde, 3-hydroxy-	19.543	81 %	0.24 %
EPA-142415	Propanoic acid, 3-chloro-, 4-formylphenyl ester	19.543	81 %	0.24 %
334485	n-Decanoic acid	19.679	70 %	0.09 %
112378	Undecanoic acid	19.679	70 %	0.09 %
112050	Nonanoic acid	19.679	70 %	0.09 %
1761100	Indolizine, 3-methyl-	20.202	34 %	0.01 %
83341	1H-Indole, 3-methyl-	20.202	34 %	0.01 %
16096325	1H-Indole, 4-methyl-	20.202	34 %	0.01 %
337503487	4-Pentenoic acid, 2,2-diethyl-3-oxo-5-phenyl-, ethyl ester	20.209	12 %	0.00 %
121335	Vanillin	20.473	95 %	1.96 %
621590	Benzaldehyde, 3-hydroxy-4-methoxy-	20.473	95 %	1.96 %
3695247	3-Hydroxy-4-methoxymandelic acid	20.473	95 %	1.96 %
16839977	Thiophene, 2-methoxy-	20.879	55 %	0.04 %
74503358	1,3-Butadiene, 1,4-dimethoxy-, (E,E)-	20.879	55 %	0.04 %
616046	2,4-Imidazolidinedione, 1-methyl-	20.879	55 %	0.04 %
501940	Benzeneethanol, 4-hydroxy-	21.282	47 %	0.03 %
637332	Hydrazine, 1-(3-hydroxybenzyl)-	21.282	47 %	0.03 %
99934	Acetophenone, 4'-hydroxy-	21.558	89 %	0.26 %
118934	Ethanone, 1-(2-hydroxyphenyl)-	21.558	89 %	0.26 %
121711	Ethanone, 1-(3-hydroxyphenyl)-	21.558	89 %	0.26 %
97541	Phenol, 2-methoxy-4-(1-propenyl)-	21.792	53 %	0.07 %

5932683	Phenol, 2-methoxy-4-(1-propenyl)-, (E)-	21.792	53 %	0.07 %
5912867	Phenol, 2-methoxy-4-(1-propenyl)-, (Z)-	21.792	53 %	0.07 %
2785877	Phenol, 2-methoxy-4-propyl-	21.923	34 %	0.01 %
5792369	2',4'-Dihydroxypropiophenone	21.923	34 %	0.01 %
1886346	4-Amino-5-formamidomethyl-2-methylpyrimidine	21.923	34 %	0.01 %
706149	2(3H)-Furanone, 5-hexyldihydro-	22.247	37 %	0.01 %
29393326	2(3H)-Furanone, 5-acetyldihydro-	22.247	37 %	0.01 %
105215	2(3H)-Furanone, dihydro-5-propyl-	22.247	37 %	0.01 %
20895470	3(2H)-Benzofuranone, 6,7-dimethyl-	22.506	69 %	0.04 %
498022	Ethanone, 1-(4-hydroxy-3-methoxyphenyl)-	22.651	95 %	0.85 %
6100749	Ethanone, 1-(3-hydroxy-4-methoxyphenyl)-	22.651	95 %	0.85 %
54771607	4-Acetoxy-3-methoxyacetophenone	22.651	95 %	0.85 %
98737	Benzoic acid, p-tert-butyl-	22.757	66 %	0.11 %
17269942	Benzene, 1-(1,1-dimethylethyl)-4-ethoxy-	22.757	66 %	0.11 %
13667282	5'-Hydroxy-2',3',4'-trimethylacetophenone	22.757	66 %	0.11 %
128370	Butylated Hydroxytoluene	23.182	62 %	0.04 %
1918112	Phenol, 2,6-bis(1,1-dimethylethyl)-4-methyl-, methylcarbamate	23.182	62 %	0.04 %
19687220	2,4,6-Tris(1,1-dimethylethyl)-4-methylcyclohexa-2,5-dien-1-one	23.182	62 %	0.04 %
128370	Butylated Hydroxytoluene	23.186	62 %	0.04 %
1918112	Phenol, 2,6-bis(1,1-dimethylethyl)-4-methyl-, methylcarbamate	23.186	62 %	0.04 %
19687220	2,4,6-Tris(1,1-dimethylethyl)-4-methylcyclohexa-2,5-dien-1-one	23.186	62 %	0.04 %
13798237	Sulfur	23.351	73 %	0.13 %
13798237	Sulfur	23.367	79 %	0.21 %
2503460	2-Propanone, 1-(4-hydroxy-3-methoxyphenyl)-	23.654	87 %	0.22 %
EPA-267403	Propan-2-one, 1-(4-isopropoxy-3-methoxyphenyl)-	23.654	87 %	0.22 %
EPA-127904	(-)-R-Phenethanamine, 1-methyl-N-vanillyl-	23.654	87 %	0.22 %
89849	Ethanone, 1-(2,4-dihydroxyphenyl)-	23.954	34 %	0.01 %
144152294	2-Acetoxy-5-hydroxyacetophenone	23.954	34 %	0.01 %
2785899	Phenol, 4-ethyl-2-methoxy-	23.954	34 %	0.01 %
10210170	3-(p-Hydroxyphenyl)-1-propanol	24.076	40 %	0.07 %
56718719	4-(2-Methoxyethyl)phenol	24.076	40 %	0.07 %
EPA-122147	Methyl-(2-hydroxy-3-ethoxy-benzyl)ether	24.143	60 %	0.16 %
13184866	Phenol, 4-(ethoxymethyl)-2-methoxy-	24.143	60 %	0.16 %
306081	Benzenoacetic acid, 4-hydroxy-3-methoxy-	24.143	60 %	0.16 %
5471512	2-Butanone, 4-(4-hydroxyphenyl)-	24.3	61 %	0.07 %
3572063	4-(p-Acetoxyphenyl)-2-butanone	24.3	61 %	0.07 %
14938353	Phenol, 4-pentyl-	24.3	61 %	0.07 %
645089	3-Hydroxy-4-methoxybenzoic acid	24.551	69 %	0.47 %
121346	Benzoic acid, 4-hydroxy-3-methoxy-	24.551	69 %	0.47 %
135773	1,2,4-Trimethoxybenzene	24.551	69 %	0.47 %
2861598	1H-Indole-1-carboxaldehyde, 2,3-dihydro-	24.601	24 %	0.03 %
61701	2H-Indol-2-one, 1,3-dihydro-1-methyl-	24.601	24 %	0.03 %
501962	Benzenepropanol, 4-hydroxy-□-methyl-, (R)-	24.698	85 %	0.47 %
33641780	Phenol, p-(2-methylallyl)-	24.698	85 %	0.47 %
20944881	Phenol, 2-(2-methyl-2-propenyl)-	24.698	85 %	0.47 %
63876460	2',4'-Dihydroxy-3'-methylpropiophenone	24.992	79 %	0.12 %
120252	4-Ethoxy-3-anisaldehyde	24.992	79 %	0.12 %
1131528	3-Ethoxy-4-methoxybenzaldehyde	24.992	79 %	0.12 %
65996501	Pyrolo[3,2-d]pyrimidin-2,4(1H,3H)-dione	25.052	44 %	0.02 %

90765449	□-Amino-3'-hydroxy-4'-methoxyacetophenone	25.055	38 %	0.01 %
38489804	Benzaldehyde, 3-methoxy-, oxime	25.055	38 %	0.01 %
629732	1-Hexadecene	25.35	75 %	0.06 %
7206215	5-Octadecene, (E)-	25.35	75 %	0.06 %
7206259	9-Octadecene, (E)-	25.35	75 %	0.06 %
14199156	Benzeneacetic acid, 4-hydroxy-, methyl ester	26.171	32 %	0.02 %
501973	Benzenepropanoic acid, 4-hydroxy-	26.171	32 %	0.02 %
65571724	l-Proline, 5-(cyanomethylene)-, methyl ester, (E)-	26.171	32 %	0.02 %
306081	Benzeneacetic acid, 4-hydroxy-3-methoxy-	26.228	54 %	0.07 %
306081	Benzeneacetic acid, 4-hydroxy-3-methoxy-	26.518	94 %	1.98 %
EPA-122147	Methyl-(2-hydroxy-3-ethoxy-benzyl)ether	26.518	94 %	1.98 %
13184866	Phenol, 4-(ethoxymethyl)-2-methoxy-	26.518	94 %	1.98 %
134963	Benzaldehyde, 4-hydroxy-3,5-dimethoxy-	26.698	82 %	0.55 %
29865905	3,4-Dimethoxy-5-hydroxybenzaldehyde	26.698	82 %	0.55 %
15402796	2,4,6-Trimethoxyamphetamine	26.698	82 %	0.55 %
EPA-297955	4-((1E)-3-Hydroxy-1-propenyl)-2-methoxyphenol	27.093	60 %	0.08 %
54576362	Benzene, 1-methyl-3-[(2-methylpropyl)thio]-	27.093	60 %	0.08 %
458355	Phenol, 4-(3-hydroxy-1-propenyl)-2-methoxy-	27.093	60 %	0.08 %
EPA-297955	4-((1E)-3-Hydroxy-1-propenyl)-2-methoxyphenol	27.1	51 %	0.07 %
54576362	Benzene, 1-methyl-3-[(2-methylpropyl)thio]-	27.1	51 %	0.07 %
65996501	Pyrolo[3,2-d]pyrimidin-2,4(1H,3H)-dione	27.357	51 %	0.02 %
19776819	2H-Pyran-2-carboxylic acid, 5-ethylidene-5,6-dihydro-2,3-dimethyl-6-oxo-, [S-(E)]-	27.357	51 %	0.02 %
EPA-115659	Benzene, 1-[(2-bromophenoxy)methyl]-3,4-dimethoxy-	27.357	51 %	0.02 %
2478388	Ethanone, 1-(4-hydroxy-3,5-dimethoxyphenyl)-	28.302	80 %	0.79 %
86817	Benzaldehyde, 3,4,5-trimethoxy-	28.302	80 %	0.79 %
90244	Ethanone, 1-(2-hydroxy-4,6-dimethoxyphenyl)-	28.302	80 %	0.79 %
1135235	□-(4-Hydroxy-3-methoxyphenyl)propionic acid	28.401	89 %	1.25 %
15964804	Benzeneacetic acid, 4-hydroxy-3-methoxy-, methyl ester	28.401	89 %	1.25 %
15964860	Benzeneacetic acid, 4-(acetyloxy)-3-methoxy-, methyl ester	28.401	89 %	1.25 %
EPA-297955	4-((1E)-3-Hydroxy-1-propenyl)-2-methoxyphenol	28.553	96 %	1.41 %
458355	Phenol, 4-(3-hydroxy-1-propenyl)-2-methoxy-	28.553	96 %	1.41 %
54755565	2,5-Dihydroxy-4-isopropyl-2,4,6-cycloheptatrien-1-one	28.553	96 %	1.41 %
437729	Desaspidinol	29.042	46 %	0.06 %
1509064	1-Butanone, 1-(2,4,6-trihydroxy-3-methylphenyl)-	29.042	46 %	0.06 %
EPA-116223	2-Pentanone, 1-(2,4,6-trihydroxyphenyl)	29.042	46 %	0.06 %
3622842	Benzenesulfonamide, N-butyl-	29.498	73 %	0.07 %
77198993	N-Phenethylbenzenesulfonamide	29.498	73 %	0.07 %
2619218	N-(2-Cyano-ethyl)-benzenesulfonamide	29.498	73 %	0.07 %
530574	Benzoic acid, 4-hydroxy-3,5-dimethoxy-	29.936	65 %	0.10 %
1916081	3-Hydroxy-4,5-dimethoxybenzoic acid	29.936	65 %	0.10 %
3840311	Benzenemethanol, 3,4,5-trimethoxy-	29.936	65 %	0.10 %
38842158	Benzeneethanamine, N-[(pentafluorophenyl)methyl]-	30.275	70 %	0.10 %
37940571	4'-Phenylpropiophenone	30.275	70 %	0.10 %
33675751	Phenol, 3-(2-phenylethyl)-	30.517	84 %	0.18 %
6335837	Phenol, 4-(2-phenylethyl)-	30.517	84 %	0.18 %
80938369	2-Benzyloxyphenylethylamine	30.517	84 %	0.18 %
5654864	Pyrrolo[1,2-a]pyrazine-1,4-dione, hexahydro-3-(2-methylpropyl)-	30.735	86 %	0.13 %
87514	Indoleacetic acid	31.49	74 %	0.08 %
24297594	1H-Indole-1-acetic acid	31.49	74 %	0.08 %
74421435	1H-Indole-3-ethanamine, N,N-bis(trimethylsilyl)-	31.49	74 %	0.08 %

4385562	3,5-Dimethoxy-4-hydroxyphenylacetic acid	31.729	80 %	0.24 %
EPA-190755	5,10-Diethoxy-2,3,7,8-tetrahydro-1H,6H-dipyrrolo[1,2-a;1',2'-d]pyrazine	32.646	87 %	0.22 %
5654864	Pyrrolo[1,2-a]pyrazine-1,4-dione, hexahydro-3-(2-methylpropyl)-	32.745	74 %	0.13 %
57103	n-Hexadecanoic acid	33.14	65 %	0.08 %
28474900	l-(+)-Ascorbic acid 2,6-dihexadecanoate	33.14	65 %	0.08 %
544638	Tetradecanoic acid	33.14	65 %	0.08 %
295170	Cyclotetradecane	33.856	58 %	0.03 %
629732	1-Hexadecene	33.856	58 %	0.03 %
18435455	1-Nonadecene	33.856	58 %	0.03 %
6554989	Phenol, 4-(2-phenylethenyl)-, (E)-	34.732	49 %	0.01 %
17861186	Phenol, 3-(2-phenylethenyl)-, (E)-	34.732	49 %	0.01 %
3839461	Phenol, 4-(2-phenylethenyl)-	34.732	49 %	0.01 %
6554989	Phenol, 4-(2-phenylethenyl)-, (E)-	34.741	43 %	0.01 %
17861186	Phenol, 3-(2-phenylethenyl)-, (E)-	34.741	43 %	0.01 %
3839461	Phenol, 4-(2-phenylethenyl)-	34.741	43 %	0.01 %
10544500	Cyclic octaatomic sulfur	34.953	94 %	1.61 %
111068	Hexadecanoic acid, butyl ester	37.119	75 %	0.09 %
110349	Hexadecanoic acid, 2-methylpropyl ester	37.119	75 %	0.09 %
14705603	Pyrrolo[1,2-a]pyrazine-1,4-dione, hexahydro-3-(phenylmethyl)-	38.492	34 %	0.02 %
113155	Ergotaman-3',6',18-trione, 12'-hydroxy-2'-methyl-5'-(phenylmethyl)-, (5'□)-	38.492	34 %	0.02 %
511126	Ergotaman-3',6',18-trione, 9,10-dihydro-12'-hydroxy-2'-methyl-5'-(phenylmethyl)-, (5'□,10□)-	38.492	34 %	0.02 %
123955	Octadecanoic acid, butyl ester	38.905	72 %	0.15 %
646139	Octadecanoic acid, 2-methylpropyl ester	38.905	72 %	0.15 %
EPA-118312	Butyl stearate	38.905	72 %	0.15 %
1686620	1-Phenanthrenecarboxylic acid, 7-ethenyl-1,2,3,4,4a,4b,5,6,7,8,10,10a-dodecahydro-1,4a,7-trimethyl-, methyl ester, [1R-(1□,4a□,4b□,7□,10a□)]-	39.031	47 %	0.16 %
1740198	1-Phenanthrenecarboxylic acid, 1,2,3,4,4a,9,10,10a-octahydro-1,4a-dimethyl-7-(1-methylethyl)-, [1R-(1□,4a□,10a□)]-	39.284	91 %	1.39 %
5155704	1-Phenanthrenecarboxylic acid, 1,2,3,4,4a,9,10,10a-octahydro-1,4a-dimethyl-7-(1-methylethyl)-, [1S-(1□,4a□,10a□)]-	39.284	91 %	1.39 %
514103	Abietic acid	39.585	83 %	0.54 %
79549	□-Pimaric acid	39.585	83 %	0.54 %
1945535	Palustric acid	39.585	83 %	0.54 %
27554263	1,2-Benzenedicarboxylic acid, diisooctyl ester	39.793	70 %	0.17 %
4376209	1,2-Benzenedicarboxylic acid, mono(2-ethylhexyl) ester	39.793	70 %	0.17 %
117840	Di-n-octyl phthalate	39.793	70 %	0.17 %
471772	1-Phenanthrenecarboxylic acid, 1,2,3,4,4a,4b,5,6,7,9,10,10a-dodecahydro-1,4a-dimethyl-7-(1-methylethylidene)-, [1R-(1□,4a□,4b□,10a□)]-10,11-Dihydro-10-hydroxy-2,3-	39.91	27 %	0.03 %
23396523	dimethoxydibenz(b,f)oxepin	40.456	88 %	0.87 %
112845	13-Docosenamamide, (Z)-	41.02	53 %	0.11 %
7683649	Squalene	41.181	35 %	0.05 %
111024	2,6,10,14,18,22-Tetracosahexaene, 2,6,10,15,19,23-hexamethyl-, (all-E)-	41.181	35 %	0.05 %
67685238	2-(2',4'-Dimethoxyphenyl)-6-methoxy-benzofuran	41.389	7.60 %	0.01 %
7251243	4-Acetylphenyl 5-acetyl-2-methoxyphenyl ether	41.389	7.60 %	0.01 %

261502936	2-Phenyl-2-(4-trimethylsilyloxyphenyl)propane	41.389	7.60 %	0.01 %
580723	2(3H)-Furanone, dihydro-3,4-bis[(4-hydroxy-3-methoxyphenyl)methyl]-, (3R-trans)-	42.973	33 %	0.05 %
104598745	Vanadium, bis[\square -(1,2,3,3a,7a- \square :3a,4,5,6,7,7a- \square)-1H-inden-1-yl]]di-, (v-v)	43.405	9.20 %	0.01 %
EPA-276025	2-(4-Methoxy-phenyl)-6-phenyl-4,4-bis-trifluoromethyl-1,4-dihydro-[1,3,5]triazine	43.405	9.20 %	0.01 %
203429	Diacenaphtho[1,2-b:1',2'-d]thiophene	43.405	9.20 %	0.01 %