

MINISTERIE VAN LANDBOUW
Bestuur voor Landbouwkundig Onderzoek
Rijkscentrum voor Landbouwkundig Onderzoek
RIJKSSTATION VOOR ZEEVISSERIJ
Oostende
Directeur : P. HOVART

**ONDERZOEK NAAR DE TOXICITEIT VOOR GARNALEN
(CRANGON CRANGON (L)) VAN AFVALSTOFFEN
AFKOMSTIG VAN DE FABRICAGE VAN RADIOGRAFISCHE
EMULSIES.**

M. BAETEMAN

MINISTERIE VAN LANDBOUW
Bestuur voor Landbouwkundig Onderzoek
Rijkscentrum voor Landbouwkundig Onderzoek
RIJKSSTATION VOOR ZEEVISSERIJ
Oostende
Directeur : P. HOVART

**ONDERZOEK NAAR DE TOXICITEIT VOOR GARNALEN
(CRANGON CRANGON (L)) VAN AFVALSTOFFEN
AFKOMSTIG VAN DE FABRICAGE VAN RADIOGRAFISCHE
EMULSIES.**

M. BAETEMAN

Mededelingen van het Rijksstation voor Zeevisserij (C.L.O. Gent)

Publicatie nr. 147/1978

D/1978/0889/3

1. Inleiding.

De fotografische industrie, zoals vele andere nijverheden wordt ook met de afvoer van zijn afvalstoffen geconfronteerd. Om deze reden wordt overwogen bepaalde afvalprodukten in zee te lozen.

Teneinde een inzicht te verkrijgen in de toxiciteitsgraad van deze stoffen werd besloten de acute toxiciteit ervan op garnalen te bepalen.

De proeven werden uitgevoerd op een monster afvalstoffen afkomstig van de fabricage van radiografische emulsies, met volgende globale samenstelling (uitgerekend aan de hand van door de fabriek verstrekte gegevens) :

a. gebonden ammoniak	NH_4^+	30,6 g/l
b. vrij ammoniak	NH_3	12,54 g/l
c. kalium	K^+	8,6 g/l
d. broom	Br^-	15,86 g/l
e. nitraat	NO_3^-	22,5 g/l
f. sulfaat	SO_4^{2-}	68,22 g/l
g. zilver	Ag^+	2,82 mg/l
h. (ijzer) aluminium	$(\text{Fe}^{2+}), \text{Al}^{3+}$	37,32 mg/l

De mogelijkheid bestaat de vrije ammoniak door toevoeging van zwavelzuur in zoutvorm om te zetten, waarbij dan een bijkomende hoeveelheid sulfaat van 37,8 g/l ontstaat. Dit geneutraliseerde produkt werd eveneens uitgetest.

2. Materiaal en methoden (1) tot (9).

De experimenten werden in een statisch systeem bestaande uit polyethyleenbakken van 60 l uitgevoerd. De recipiënten werden elk met 20 l testmedium gevuld. De bakken werden van een deksel voorzien, teneinde evaporatie te vermijden.

Het pollutant werd in verschillende verhoudingen in artificieel zeewater, zonder chelaatvormers(*),verdund. Elke concentratie werd in duplo uitgetest.

Temperatuur, pH (normale pH van zeewater, nl. $8,1 \pm 0,2$),saliniteit en zuurstofgehalte (minstens 5 mg/l, doch liefst benaderd de verzadigingswaarde), werden zo constant mogelijk gehouden. Als testorganisme werd garnaal (Crangon crangon (L)) gebruikt. Dit schaaldier is bekend om zijn gevoeligheid t.o.v. pollutanten en is een karakteristiek weinig migrerend organisme uit de Belgische kustwateren.

De testorganismen werden gedurende de zomer in het sublittoraal gerecruteerd (watertemperatuur $\pm 20^{\circ}$ C) en moesten bijgevolg stapsgewijze aan de werkingstemperatuur van 12° C $\pm 1^{\circ}$ C worden geadapteerd.

Gedurende de minstens één week durende adaptatieperiode werden de garnalen met mosselvlees gevoederd ; tijdens de testperiode werd er echter geen voedsel toegediend.

In de loop van de experimenten werd het testmedium om de 24 h vernieuwd om aldus een eventuele concentratiewijziging tengevolge van verdamping, opname door de organismen, chemische degradatie enz. te voorkomen.

Gelijktijdig werden het aantal levende organismen genoteerd en de dode individuen verwijderd. Herhaalde malen bleek het moeilijk te zijn dode en levende organismen van mekaar te onderscheiden. Daarom werden de stervende dieren voor een duur van 48 uren in zuiver zeewater overgebracht.

(*) Zeewater op basis van H.W. zout (geleverd door H. Wiegandt, Krefeld, West-Duitsland) bleek zeer geschikt.

Organismen die zich gedurende deze periode herstelden d.w.z. individuen die zich op het einde van de toxiciteitsproef in de reversiebele sublethale fase bevonden, werden als levenden opgetekend. Organismen die zich anderzijds niet herstelden en zich dus op het einde van de proef in de irreversiebele lethale fase bevonden, werden geacht dood te zijn.

Bij het uitvoeren van de toxiciteitsproeven werd steeds gestart met een 24-uren- durende "screening-test". Aan de hand van deze test werd een grove schatting van de toxiciteit van het pollutant bekomen. In dit licht werd een tiendelige verdunningsreeks aangelegd ; in dit onderzoek werden de volgende diluties gebruikt : 10.000 - 1.000 - 100 - 0 ppm.

De percentages overlevenden, na 24 uren en bij de verschillende concentraties van het pollutant, werden vervolgens in grafiek uitgezet. Aan de hand van deze grafiek werd een grove benadering van de LC_{50}^{24} (Lethal Concentration) bekomen.

In de volgende fase van het toxiciteitsonderzoek werden de grenzen, binnen dewelke zich de LC_{50}^{24} bevindt, opgesplitst in een logaritmische reeks ; in onderhavig geval werd de hiernavolgende verdunningsreeks aangewend : 1.000 - 320 - 100 - 0 ppm.

Voor elke concentratie werd het percentage overlevenden tegenover de tijd uitgezet. Hieruit kon de ET_{50} afgeleid worden (median Effective Time) d.i. de tijd nodig opdat, bij een bepaalde concentratie van het pollutant, 50 % van de organismen nog in leven zouden zijn. Anderzijds kan de LC_{50}^{96} d.i. de concentratie bij dewelke na 96 uren, nog 50 % van de organismen in leven zijn uit de overeenkomstige overlevings - concentratiekurve worden afgeleid.

De bekomen ET_{50} 's werden in funktie van de respektievelijke concentraties op logaritmisch papier uitgezet. Op die manier werd een distribu-

tiekurve verkregen voor de mortaliteit welke typisch is voor de aard van het pollutant en waaruit de TL_m -waarde (median Lethal Threshold concentration) kan worden afgeleid, d.i. de maximale concentratie bij dewelke zich geen acuut-toxische effecten manifesteren.

De toxiciteitsproeven werden uitgevoerd op : geneutraliseerd pollutant en ongeneutraliseerd pollutant.

3. Resultaten.

3.1. LC_{50} -proeven met het geneutraliseerde pollutant.

Aan de hand van de voorafgaandelijke screening-test (24 h) konden de grenzen van toxiciteit worden bepaald (1.000 - 10.000 ppm)(fig. 1). De LC_{50}^{24} bedroeg hierbij 3.200 ppm. Dit interval werd vervolgens in een logaritmische reeks opgesplitst (10.000 - 3.200 - 1.000 - 0 ppm) en in een LC_{50}^{96} uitgetest (fig. 2). Uit de aldus bekomen resultaten bleek echter dat de LC_{50}^{96} waarde kleiner was dan 1.000 ppm (fig. 3).

Deze verlaging van de LC_{50} -waarde, bij een langere proefperiode, is waarschijnlijk het gevolg van een versterking van het sublethaal effect en mede het gevolg van een verminderde resistentie van het organisme ten aanzien van het pollutant met als gevolg een verhoogde mortaliteit.

In een daaropvolgende LC_{50}^{96} -test werd een lagere verdunningsreeks uitgetest, nl. : 1.000 - 320 - 100 - 0 ppm (fig. 5 en 6). Uit fig. 5 kan enkel de ET_{50} (1.000 ppm) worden afgeleid, nl. 68 uren. De LC_{50}^{96} bedroeg 620 ppm (fig. 6).

Uit fig. 2 kunnen de ET_{50} -waarden, bij verschillende concentraties worden bepaald :

$$ET_{50} (10.000 \text{ ppm}) = 1 \text{ h } 30'$$

$$ET_{50} (3.200 \text{ ppm}) : 7 \text{ h } 30'$$

$$ET_{50} (1.000 \text{ ppm}) = 81 \text{ h}$$

Deze ET_{50} -waarden werden vervolgens op een dubbellogaritmisch grafiek in functie van hun respektievelijke concentraties, uitgezet. Uit fig. 4 kan de TL_m -waarde worden afgeleid, nl. 900 ppm. Diezelfde curve geeft ook een beeld van de LC_{50}^{48} .

Tabellen 1 en 2 vermelden de temperatuur, de pH, de opgebste zuurstof en het zoutgehalte die tijdens de proeven werden genoteerd.

Tabel 1 - Temperatuur-, zuurtegraad-, opgeloste zuurstof- en saliniteitswaarden van een LC_{50}^{96} -test met het geneutraliseerde pollutant op Crangon crangon (L) (verdunningsreeks : 10.000 - 3.200 - 1.000 - 0 ppm)

Tijd in uren	0 ppm				1.000 ppm				3.200 ppm				10.000 ppm			
	t°	pH	DO	S‰	t°	pH	DO	S‰	t°	pH	DO	S‰	t°	pH	DO	S‰
24	9,8	8,3	7,3	33,3	11,2	8,2	7,1	33,5	11,2	8,2	7,2	33,6				
48	11,9	8,3	6,8	33,1	12,0	8,2	6,9	32,8								
72	11,0	8,3	7,3	32,1	12,0	8,1	7,2	32,2								
96	12,3	8,3	6,9	32,2	11,3	8,2	7,1	32,0								

Tabel 2 - Temperatuur-, zuurtegraad-, opgeloste zuurstof- en saliniteitswaarden van een LC_{50}^{96} -test met het geneutraliseerde pollutant op Crangon crangon (L) (verdunningsreeks : 1.000 - 320 - 100 - 0 ppm)

Tijd in uren	0 ppm				100 ppm				320 ppm				1.000 ppm			
	t°	pH	DO	S‰	t°	pH	DO	S‰	t°	pH	DO	S‰	t°	pH	DO	S‰
24	9,4	8,1	7,1	32,0	11,1	8,1	7,1	32,3	10,5	8,2	7,0	32,1	11,0	8,0	6,9	31,1
48	13,5	8,3	6,9	32,9	11,5	8,2	6,9	32,8	11,2	8,2	7,0	32,7	11,2	8,1	7,0	32,8
72	11,0	8,2	7,2	36,3	12,2	8,2	6,9	37,1	12,0	8,1	7,0	37,2	12,2	8,2	7,0	36,8
96	9,8	8,2	7,4	35,4	11,1	8,2	7,1	35,4	11,0	8,2	7,0	35,6	11,0	8,2	7,1	35,8

3.2. LC_{50} -proeven met het ongeneutraliseerde pollutant.

Tien minuten na de start van de screening-test (24 u) bedroeg de mortaliteit reeds 100 % bij 10.000 ppm. De LC_{50}^{24} bedroeg hier : 2.239 ppm

(fig. 7). Naar analogie met het geneutraliseerde pollutant werd voor de LC_{50}^{96} een verdunningsreeks aangewend van 1.000 - 320 - 100 - 0 ppm (fig. 8). Hieruit kon ET_{50} (1.000 ppm) worden afgeleid, nl. 12 uren. De LC_{50}^{96} bedroeg hier 385 ppm (fig. 9).

Het pollutant bleek slechts een kleine invloed op de zuurtegraad van het medium uit te oefenen (tabel 3).

Tabel 3 - Temperatuur-, zuurtegraad-, opgeloste zuurstof- en saliniteitswaarden van een LC_{50}^{96} -test met het ongeneutraliseerde pollutant op Crangon crangon (L) (verdunningsreeks : 1.000 - 320 - 100 - 0 ppm).

Tijd in uren	0 ppm				100 ppm				320 ppm				1.000 ppm			
	t°	pH	DO	S‰	t°	pH	DO	S‰	t°	pH	DO	S‰	t°	pH	DO	S‰
24	12,9	8,5	8,0	31,8	12,5	8,6	8,5	32,0	12	8,7	8,5	31,8	12,1	8,6	8,8	31,8
48	12,5	8,2	8,6	31,7	12,3	8,7	8,6	31,7	12	8,7	8,6	31,8	12,1	8,7	8,7	31,6
72	12,5	8,5	8,6	31,9	12,3	8,8	8,6	31,9	12	8,7	8,6	31,7	12,0	8,7	8,7	31,8
96	12,0	8,3	8,6	34,7	12,0	8,7	8,6	34,8	12	8,7	8,5	35,0	12,2	8,7	8,6	34,6

4. Besluit.

Bij vergelijking van de resultaten bekomen met het ongeneutraliseerde en het geneutraliseerde pollutant bleek de ongeneutraliseerde stof duidelijk toxischer te zijn.

Deze hogere toxiciteit is voornamelijk toe te schrijven aan het hoge gehalte vrije NH_3 in het ongeneutraliseerde produkt. NH_3 is namelijk een zenuwgift en werkt op het centrale zenuwstelsel in.

Ten einde de risico's voornadelige effecten in het biotoop tot een minimum te beperken, zouden de afvalstoffen vóór het lozen in zee, geneutraliseerd moeten worden. Hiervoor kan een zuurhoudende afvalstof worden gebruikt (bv. zwavelzuur) afkomstig van de titaandioxide-produktie). Bij de neutralisering dient evenwel door een gepaste verhouding zuur/pollutant gewaakt te worden dat geen vlokvorming optreedt (bv. door de aanwezigheid van ijzer).

De TL_m -waarde voor Crangon crangon (L) bedraagt 900 ppm, hetgeen aanvaardbaar is. Men mag dan ook ten voorlopigen titel aannemen dat de betrokken afvalstof geen schadelijke effecten op de mariene fauna zal hebben.

De LC_{50}^{96} -waarde bedraagt 620 ppm voor het geneutraliseerde produkt. Daar met een veiligheidsfaktor 10 rekening moet worden gehouden, zou de toelaatbare concentratie op de plaats van dumping maximaal 62 ppm mogen bedragen, dit na initiële dilutie.

Tenslotte dient erop gewezen te worden, dat het hier in vitro proeven betrof die door onderzoek in zee dienen te worden bevestigd indien tot effectieve lozing wordt overgegaan. In dit verband mag niet uit het oog worden verloren dat synergisme niet uitgesloten is.

Bovendien moet de aandacht gevestigd worden op het feit dat de afvalstof belangrijke hoeveelheden minerale stikstof bevat (nitraten en ammonium), hetgeen zijn weerslag kan hebben op het fenomeen van de eutroficatie. De snelle absorptie van stikstof door het fytoplankton, die een verhoogde primaire produktie tot gevolg heeft, kan immers de bacteriële produktie stimuleren. De verbreking van het evenwicht tussen de produktie enerzijds en het verbruik anderzijds, kan ook aanleiding geven tot accumulatie van organisch materiaal.

Om al deze redenen is een monitoring in situ volstrekt noodzakelijk.

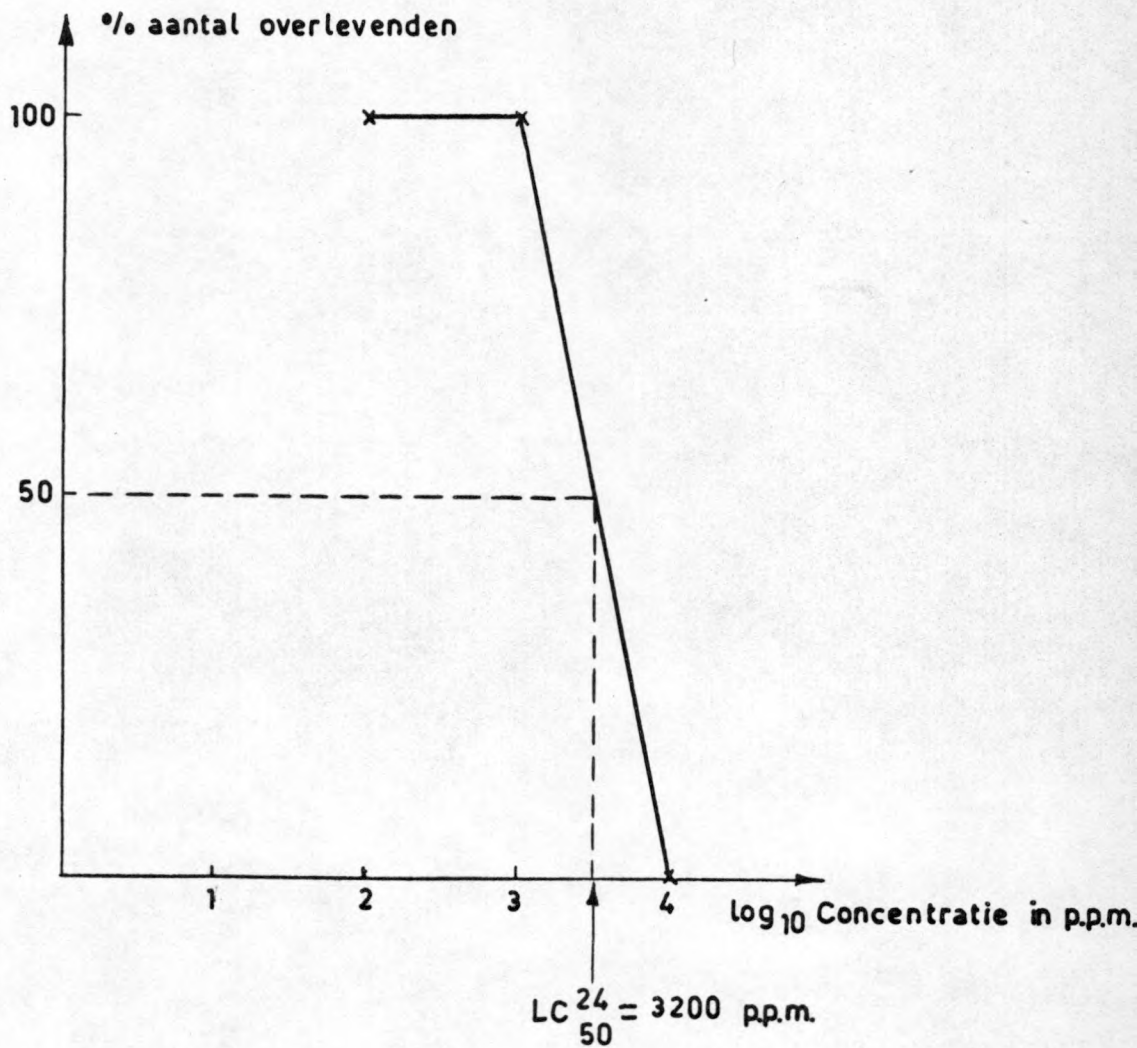


Fig. 1 - Overlevings - concentratie curve van een LC₅₀²⁴-test voor het geneutraliseerde pollutant op Crangon crangon(L)

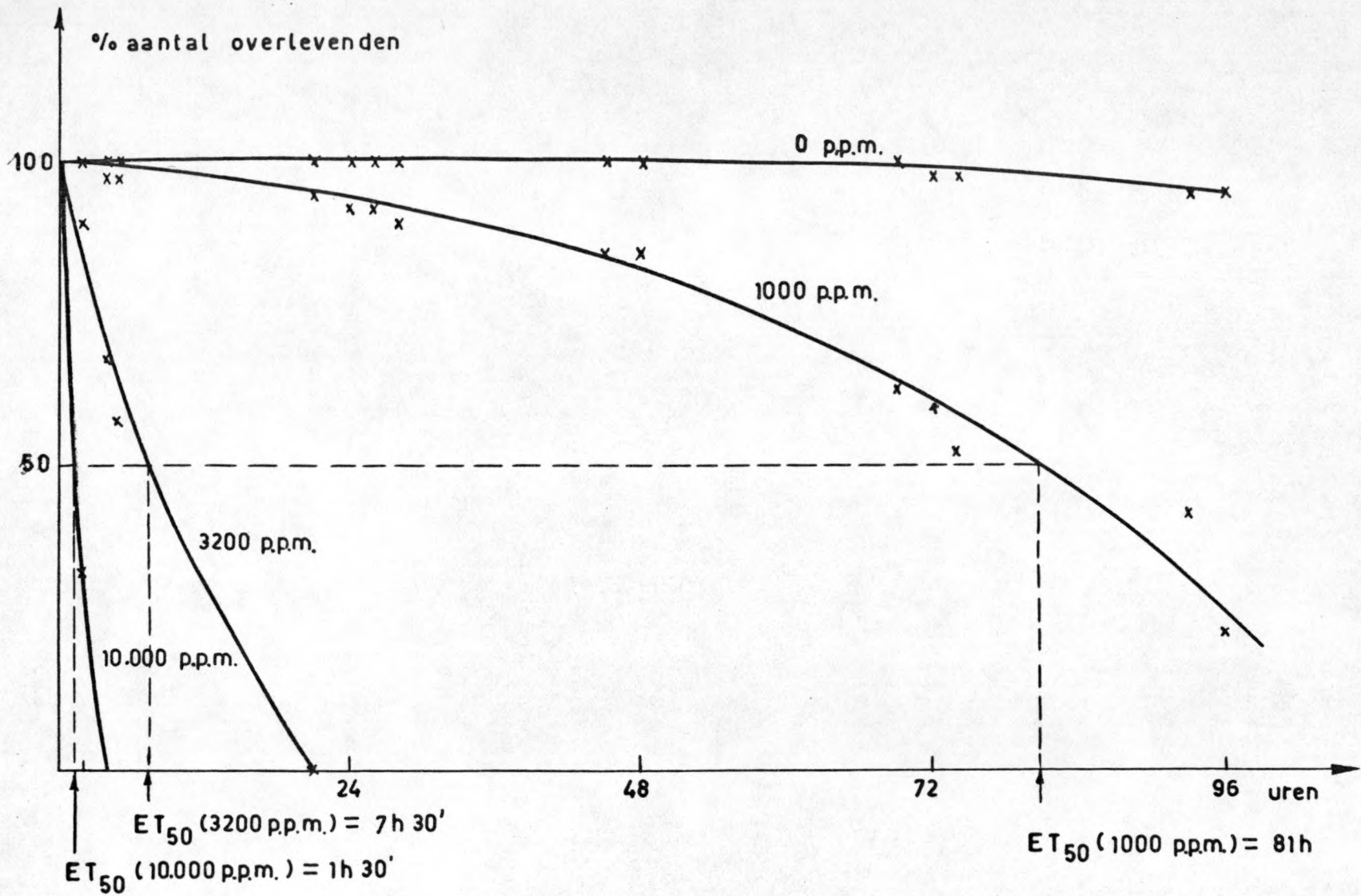


Fig. 2 - Overlevings - tijd kurve van een LC_{50}^{96} -test van het geneutraliseerde pollutant op Crangon crangon(L) (verdunningsreeks 10.000 - 3.200 - 1.000 - 0 ppm)

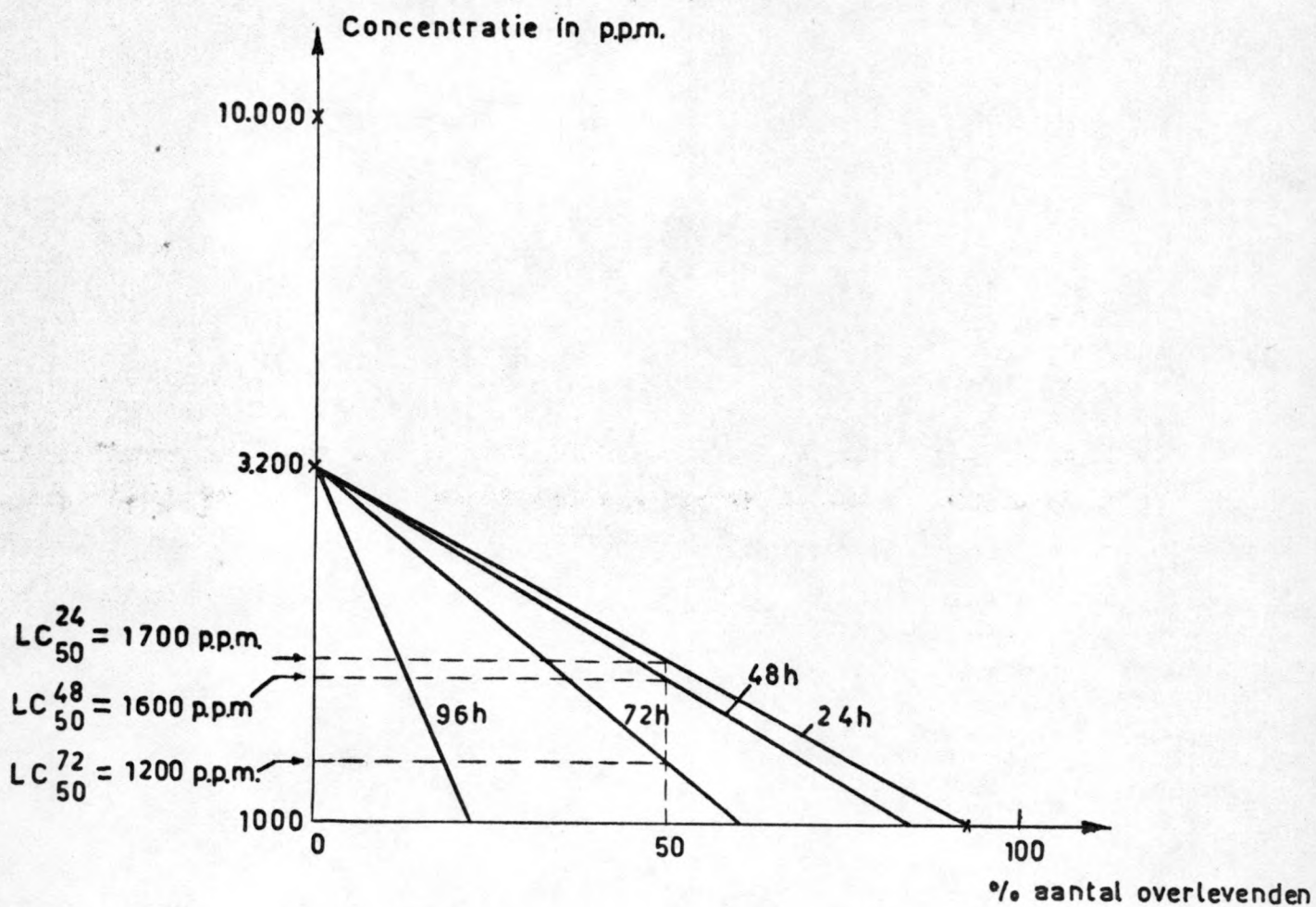
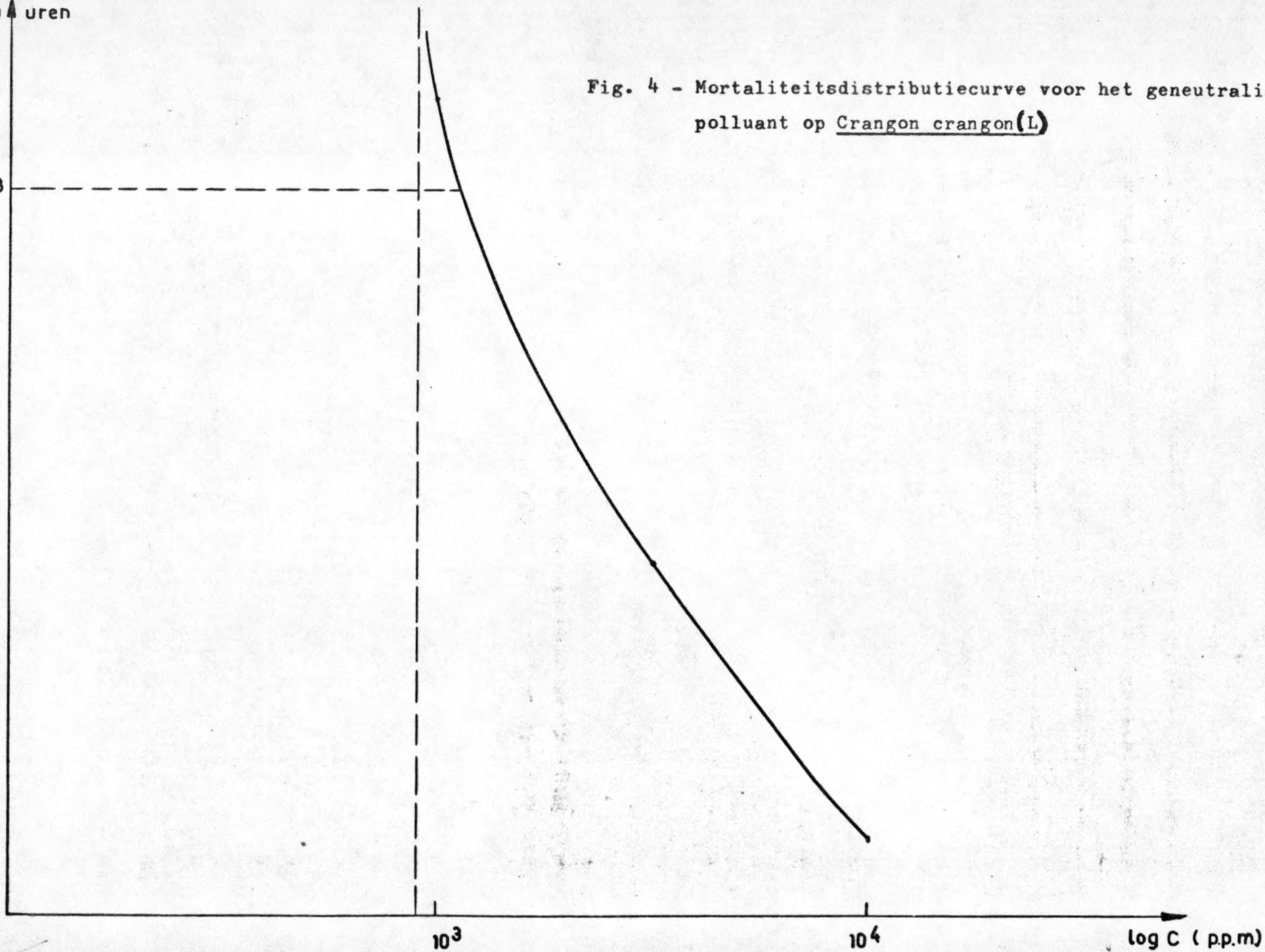


Fig. 3 - Overlevings - concentratie curve van een LC₅₀⁹⁶-test van het geneutraliseerde pollutant op Crangon crangon(L) (verdunningsreeks 10.000 - 3.200 - 1.000 - 0 ppm)

ET50 uren

Fig. 4 - Mortaliteitsdistributiecurve voor het geneutraliseerde
polluant op Crangon crangon(L)

48



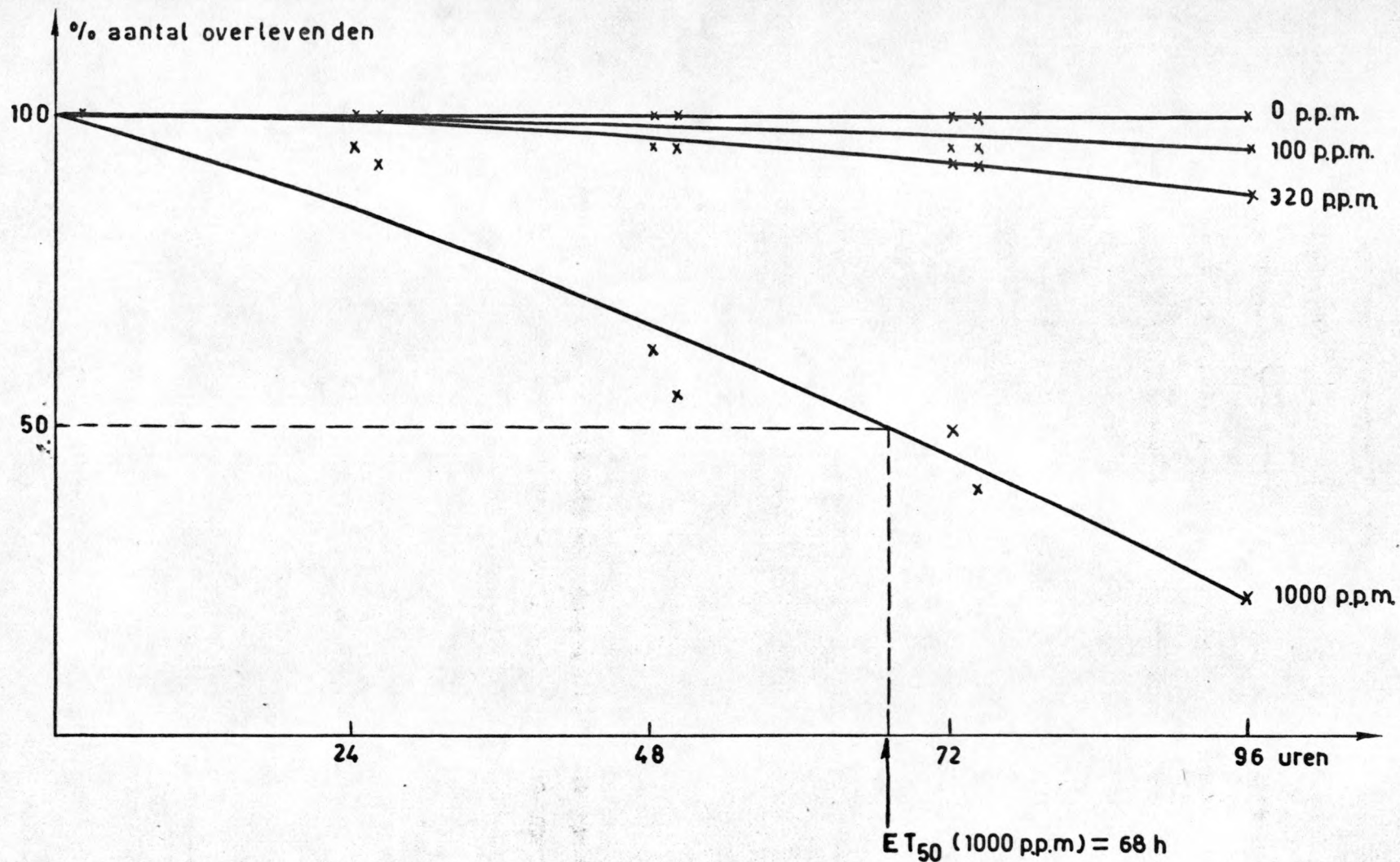


Fig. 5 - Overlevings - tijd kurve van een LC_{50}^{96} -test van het geneutraliseerde pollutant op Crangon crangon (L) (verdunningsreeks : 1.000 - 320 - 100 - 0 ppm)

12

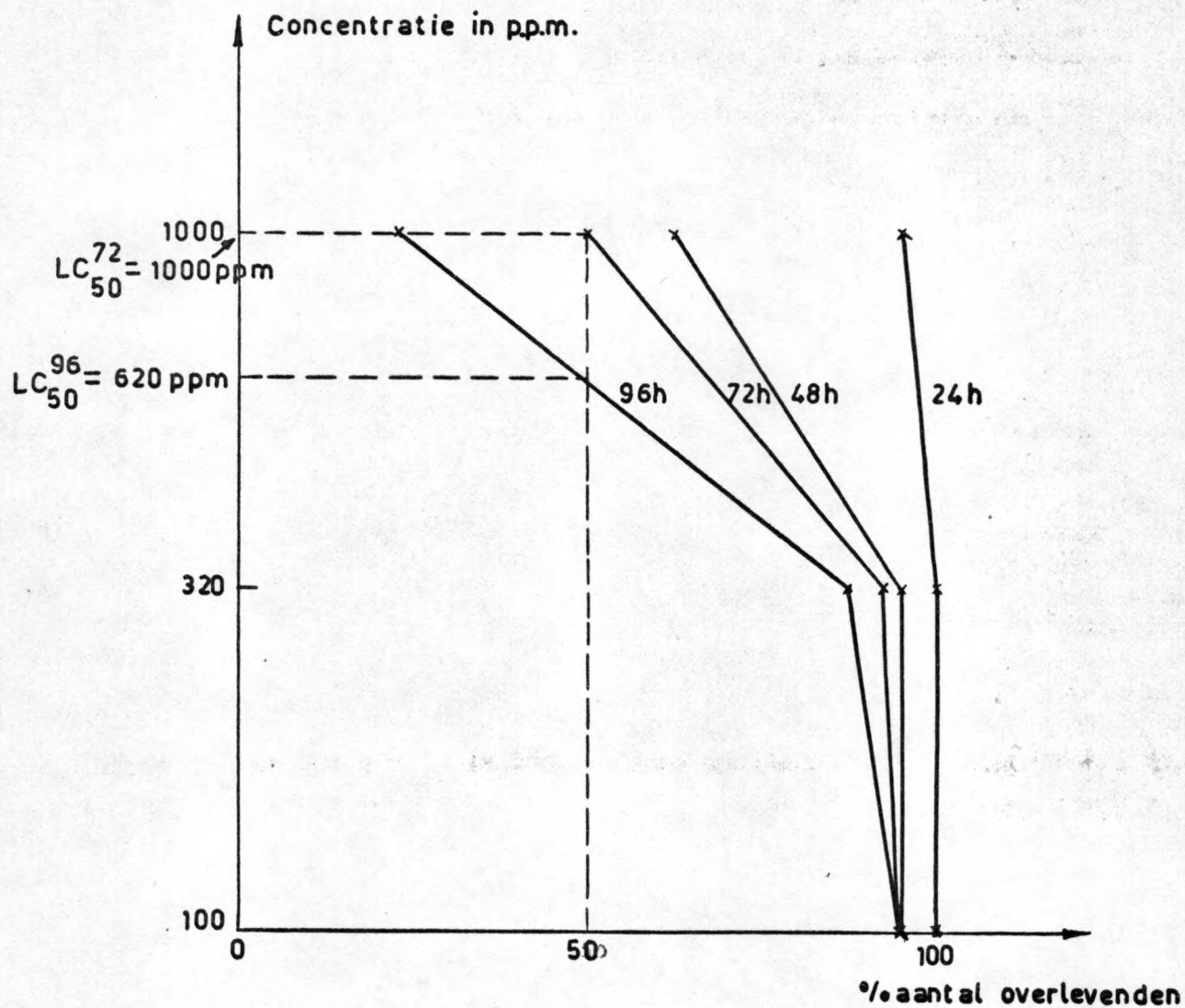


Fig. 6 - Overlevings - concentratie curve van de LC_{50}^{96} -test van het geneutraliseerde pollutant op Crangon crangon(L) (verdunningsreeks 1.000 - 320 - 100 - 0 ppm).

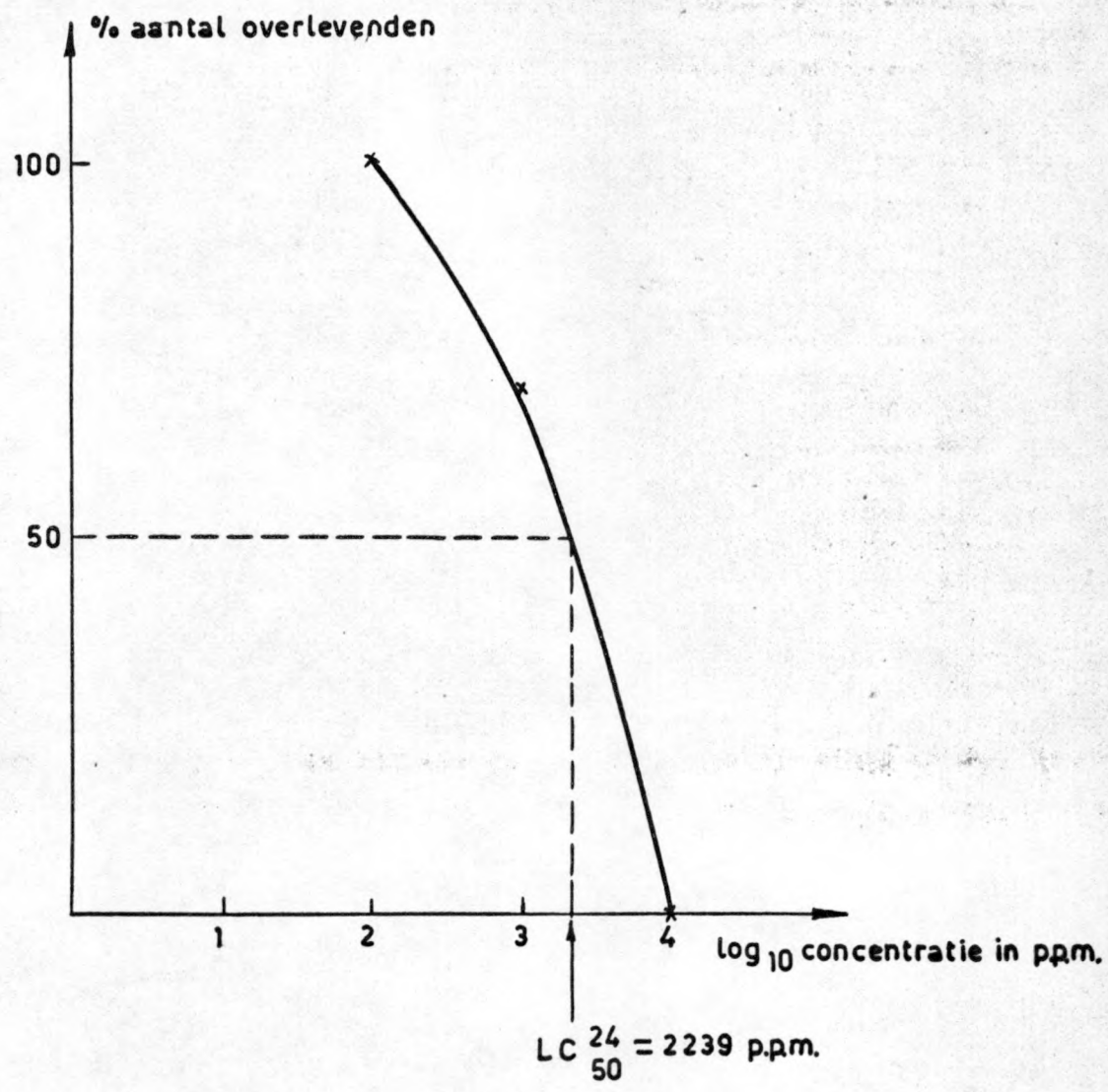


Fig. 7 - Overlevings - concentratie curve van de LC₅₀²⁴ -test voor het ongeneutraliseerde pollutant op Crangon crangon(L)

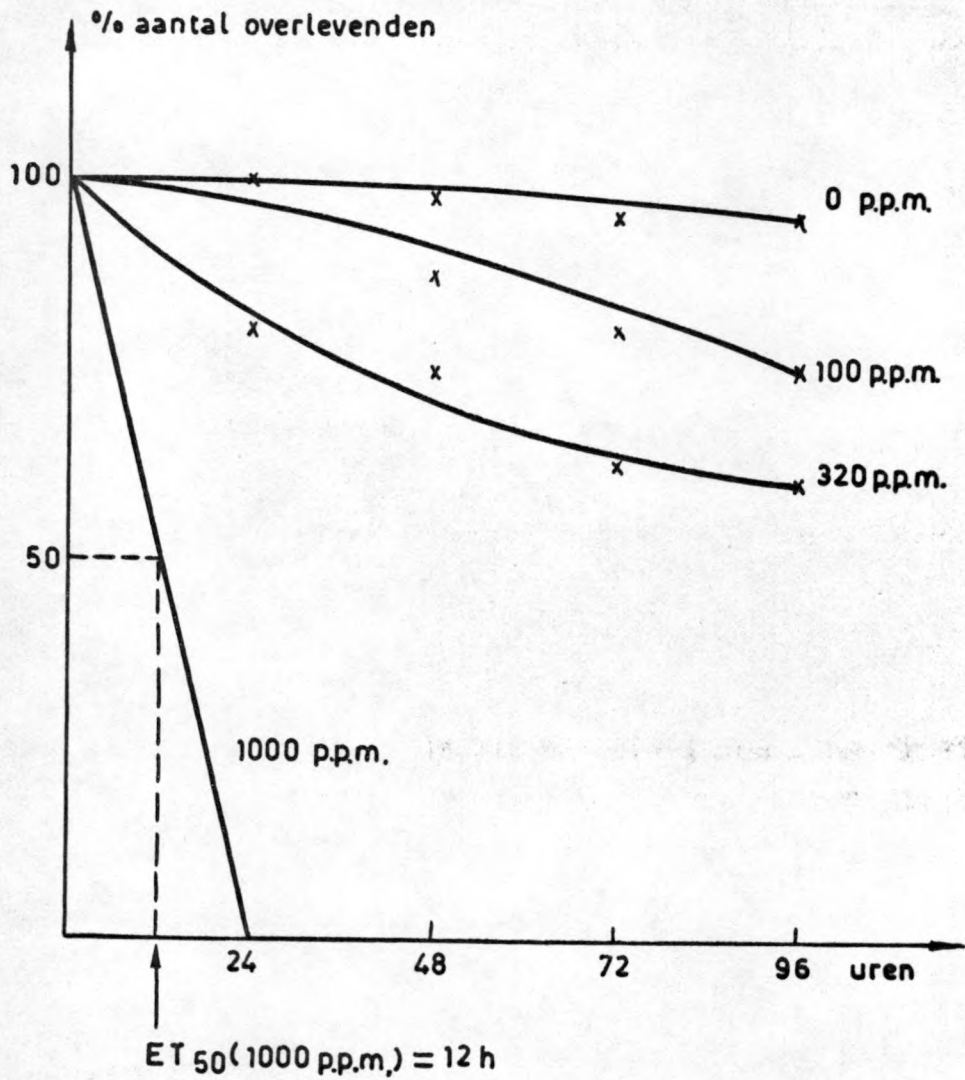


Fig. 8 - Overlevings - tijd kurve van een LC_{50}^{96} -test met het ongeneutraliseerde pollutant op Crangon crangon(L) (verdunningsreeks : 1.000 - 320 - 100 - 0 ppm).

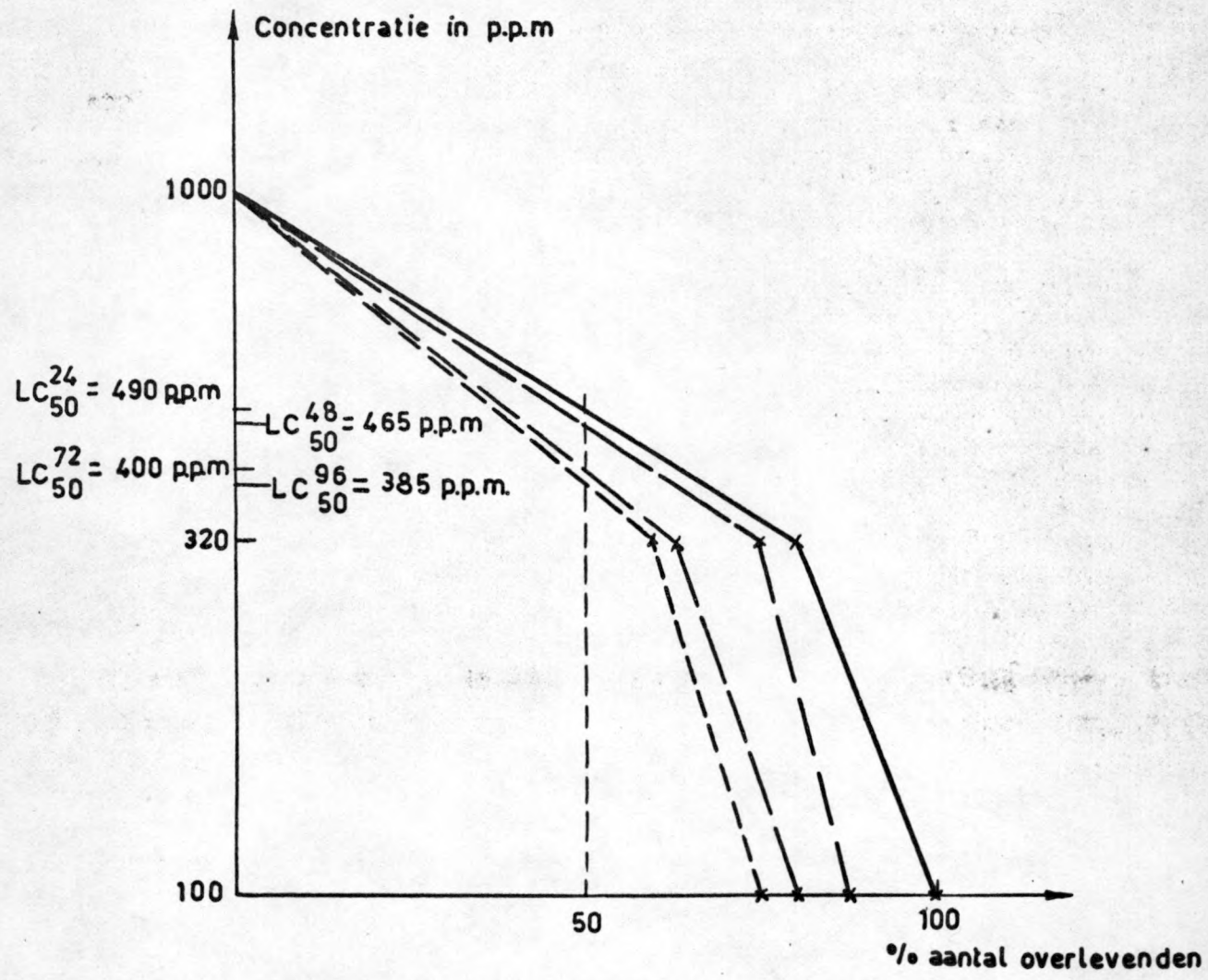


Fig. 9 - Overlevings - concentratie curve van een LC₅₀⁹⁶-test met het ongeneutraliseerde pollutant op Crangon crangon(L)

Referenties.

1. Dethlefsen, V. (1975) : ICES - Fisheries Improvement Committee - C.M. 1975/E:10.
2. Gesamp - Report (1973-IV/3) : Bio-assays and other techniques for evaluation of lethal and sub-lethal effects of pollutants on marine organisms.
3. Pissarra, J.L. (1974) : Oslo Convention - Preparatory Committee - Report no. 5.
4. Portmann, J.E. (1968) : Helgoländer wiss. Meeresunters. 17, 247-256 (1968).
5. Sprague, J.B. (1969) : Water Research Pergamon Press 1969. - Vol. 3, pp. 793-821.
6. Sprague, J.B. (1970) : Water Research Pergamon Press 1970. Vol. 4, pp. 3-32.
7. Vink, G.J. (1974) : TNO-Delft - Report nr. MD-N & E 73/44.
8. Wilson, K.W. (1972) : ICES - Fisheries Improvement Committee - C.M. 1972/E:15.
9. Wilson, K.W. ; Connor, P.M. en Neale, P. (1974) : Oslo Convention - Preparatory Committee Report.

