

MINISTERIE VAN LANDBOUW
BESTUUR VOOR LANDBOUWKUNDIG ONDERZOEK
Rijkscentrum voor Landbouwkundig Onderzoek – Gent
RIJKSSTATION VOOR ZEEVISSERIJ – OOSTENDE
Directeur: Dr. P. HOVART

**ECOTOXICITEITSSTUDIE OP EEN AFVALSTOF
AFKOMSTIG VAN DE PRODUKTIE VAN ANILINES MET
GARNALEN (*CRANGON CRANGON* (L)),
PLATVIS (*PLEURONECTES PLATESSA* L.) EN
MOSSELEN (*MYTILUS EDULIS* L.) ALS TESTORGANISMEN**

Assessment of the toxicity of alkaline aluminate waste with
shrimps (*Crangon crangon* (L)), flatfish (*Pleuronectes platessa* L.) and
mussels (*Mytilus edulis* L.) as testorganisms

Monique BAETEMAN



Mededelingen van het Rijksstation voor Zeevisserij (C.L.O.-Gent)
Publikatie nr. 211, 1986

MINISTERIE VAN LANDBOUW



BESTUUR VOOR LANDBOUWKUNDIG ONDERZOEK

Met de groeten van het

RIJKSSTATION VOOR ZEEVISSERIJ
RIJKSCENTRUM VOOR LANDBOUWKUNDIG ONDERZOEK
GENT

Directeur : Dr. P. HOVART

Ankerstraat, 1, B-8400 Oostende - België

MINISTERIE VAN LANDBOUW
BESTUUR VOOR LANDBOUWKUNDIG ONDERZOEK
Rijkscentrum voor Landbouwkundig Onderzoek – Gent
RIJKSSTATION VOOR ZEEVISSERIJ – OOSTENDE
Directeur: Dr. P. HOVART

**ECOTOXICITEITSSTUDIE OP EEN AFVALSTOF
AFKOMSTIG VAN DE PRODUKTIE VAN ANILINES MET
GARNALEN (*CRANGON CRANGON* (L)),
PLATVIS (*PLEURONECTES PLATESSA* L.) EN
MOSSELEN (*MYTILUS EDULIS* L.) ALS TESTORGANISMEN**

Assessment of the toxicity of alkaline aluminate waste with
shrimps (*Crangon crangon* (L)), flatfish (*Pleuronectes platessa* L.) and
mussels (*Mytilus edulis* L.) as testorganisms

Monique BAETEMAN

SUMMARY

An exotoxicity study was carried out on an alkaline aluminate waste which contains 5.5 % NaCl, 1.8 % dissolved Al and 8.2 % NaOH, in addition to traces of heavy metals and some aniline - and phenol derivatives.

Experiments were carried out in a static system, consisting of 60 l polyethylene tanks. Each aquarium was filled with 20 l of the test medium. The tanks were covered to prevent evaporation.

Temperature, pH, salinity and dissolved oxygen were kept constant. Brown shrimp (Crangon crangon (L)), plaice (Pleuronectes platessa L.) and mussel Mytilus edulis L., respectively representative for flatfish, crustaceans and molluscs were used as test organisms.

The animals were collected near the shore and were acclimatized to the laboratory conditions for at least one week. During this period the animals were fed with suitable food. During the short term tests however no food was supplied.

The test medium was renewed every 24 hours to reduce errors introduced through possible loss of toxins by uptake, evaporation, chemical degradation etc.

Firstly an initial 24-hours "screening test" was set up to obtain a rough estimation of the toxicity of the waste ; 20-litre volumes containing 100.000 - 10.000 - 1.000 - 100 - 10 and 0 ppm of the effluent were made up in sea water. The survival percentages, after 24 hours and at the different concentrations of the pollutant, were plotted on a graph. On the basis of this graph a rough approach of the LC_{50}^{24} (median Lethal Concentration - the concentration of the test compound that kills 50 % of the test population, after 24 hours) could be made.

These preliminary tests determined the order of magnitude of the effective concentrations. The "main test" followed.

Several, usually five, concentrations were generally tested simultaneously. These concentrations form a geometric series. For routine

toxicity tests a geometric series with factor $10^{0,25} = 1,8$ is common, e.g. 100 - 180 - 320 - 560 - 1000 ppm. At each concentration the survival percentage was plotted against time.

From this graph the ET_{50} could be estimated (median Effective Time = the time after which, at a given concentration, an effect has occurred in 50 % of the test population ; in the case of an acute test, the measured effect is death).

On the other hand the LC_{50}^{96} (median Lethal Concentration = the concentration of the test compound that, after 96 hours, kills 50 % of the test population) could be derived from the corresponding survival - concentration curves.

Then the ET_{50} 's were plotted against their respective concentrations (ppm) on semi-log paper to give a "Mortality Distribution Curve" from which the median Lethal Threshold concentration (TL_m = the maximum concentration at which acute toxicity is not apparent), could be derived.

CONCLUSIONS

With this waste the lethal threshold concentration, the most important factor in toxicity studies, could not be reached. Except in the case of the filtrates, the mortality distribution curves of all tests were convex, indicating a complex situation.

Mussels were clearly less sensitive to the waste than shrimps and fish. From the two groups, shrimps seemed to be the most sensitive.

By comparing the results of the waste as a whole and the anorganic fraction of the waste, without organic compounds (tables 2 and 3) it could be concluded that the toxicity is increased by adding the

organic compounds. Nevertheless the mortality distribution curve is in both cases convex (fig. 3-14) and the numeric value of the threshold is at about the same level. It can thus be concluded that the mechanical effect is of great importance in the caused lethality.

The influence of flakes on the filter-feeding behavior, growth and mortality of mussels (Mytilus edulis L.) have been investigated in the FRG and the U.K. (8)(12)(13). From these studies could be concluded that increasing amounts of flocs transported through the digestive tract is associated with an increase in mortality rate, which is caused by the following :

- increased production of pseudo-faeces, which brings about an increase in mucus formation, increasing the loss of organic substances ;
- a corresponding increase in the amount of algal cells entangled in the pseudo-faeces, diminishing the number of algal cells available as food to the animals ;
- an increase of indigestible material within the digestive tract resulting in a further loss of organic material by inclusion of a high fraction of waste products within excretory spheres.

This makes it clear that in such case the high mortality is not caused by acute toxicity of the flocs, but by a loss of organic material and a reduction in food available to the animals. From these experiments it may be generalized that an increase in substances that create turbidity, even those without inherent toxicity, may be harmful when discharged into the sea, especially to suspension-feeding organisms.

From the tests with the low concentrations, where the mortality distribution curve was still convex, the role of the mechanical effect is not directly clear. The question arises if there are no other factors which could cause part of the toxic effect, for instance the aluminium content. There are three forms of aluminium in water : aluminate anion, molecular (suspended) aluminium hydroxide, and aluminium cation (9).

The toxicity of aluminium is function of the concentration but also of the pH. The importance of pH control is clearly demonstrated in the work of Freeman and Everhart (10), who studied the effect of different aluminium species on rainbow trout.

Test solutions containing 5,2 mg/l of total aluminium were progressively more toxic to pH-acclimated fish at pH 7 ; 8' ; 8,5 and 9. Because the proportion of dissolved to suspended aluminium also increases with pH (table 6), it appears that the acute toxicity of aluminium hydroxide to rainbow trout is primarily due to the aluminate ion. With this waste, which contains already 8,2% NaOH and which has been tested in solution with seawater which has high alkalinity, it is not excluded that the aluminium content has an essential role in the caused lethality.

Investigations (11) about the concentration factors for various elements in marine organisms, noted that aluminium could be absorbed through the alimentary canal and was reported to be concentrated in the soft parts of molluscs and in crustacean and fish muscle.

For a solution of 10000 ppm the difference in flocculation between sythetic seawater and natural seawater as medium, has been investigated, this as well as with waste, as with "salts only". The floc was filtered, air dried and weighed. In the case of sythetic seawater made up with tap water, there was 20 % more floc formation (table 7). This is due to the high calcium and carbonate content of the tap water used. Analysis of floc is given in table 8. The toxic effect of the waste is about the same with natural seawater as medium (table 9 and 10). LC_{50} - and ET_{50} -values are of the same order of magnitude, the mortalitydistribution curve is still convex with absence of a tolerance limit.

The importance of the mechanical effect could be supported by the results of the tests with the filtrates. In all dilutions the floc was separated by filtration and the tests were done on the resulting filtrates. This series of tests resulted in a clear tolerance limit of 15000 ppm. Nevertheless

it can not be concluded that the mechanical effect alone causes the mortality. Separation of the floc could signify elimination of the aluminium and the organic compounds, possibly adsorbed to the floc, out of the test solutions.

The toxicity of the waste after elimination of the aluminate must mainly be attributed to its basic character. In this case i.e. an effluent with a well defined tolerance limit, the initial dilution that must be respected for sea disposal, can easily be calculated.

Finally, because of the absence of tolerance limits for all organisms, dumping of this waste must strongly be dissuaded. Modification of the production process, resulting in a residue without aluminium floc, must strongly be recommended.

1. INLEIDING

Een ecotoxiciteitsstudie werd uitgevoerd op een vloeibaar afvalprodukt afkomstig van de fabricatie van sommige componenten gebruikt voor de synthese van herbiciden, waarvoor een lozingsaanvraag werd ingediend.

Het produkt heeft de volgende samenstelling (gegevens door de fabriek verstrekt) :

- Na OH	8,2 %
- Na Cl	5,5 %
- Na AlO_2	5,7 %
- organische stoffen	0,04 %
- water	80 %

waarbij de organische componenten als volgt gediversifieerd zijn :

	% TOC
2-methyl - 6 - ethylaniline (MEA) + 2,6 - diethylaniline (DEA)	6,8
0 - toluidine + aniline	32,2
2,6 - dimethylfenol (DMP)	8,6
2,6 - dimethylaniline (DMA)	21,6
n - butanol	19,7
0 - cresol	11,1
<hr/>	<hr/>
totaal	100

Het betreft een vloeibaar produkt met soortelijk gewicht 1,20 dat, wanneer het in contact met zeewater wordt gebracht, een vlokvormig neerslag geeft dat zeer volumineus is en als $Mg_6Al_2CO_3(OH)_{16} \cdot 4H_2O$ (gelijkend op hydrotalcite-manasseite) werd geïdentificeerd (14).

2. MATERIAAL EN METHODEN (1) tot (8)

Onder acute toxiciteitstesten wordt verstaan testen waarbij zowel de duur van blootstelling aan het pollutant, als de observatietijd kort zijn in relatie tot de levenscyclus van het testorganisme in kwestie. Het doel van de biologische observatie gedurende een toxiciteitstest bestaat erin de schadelijke effecten van toxische componenten op testorganismen te bepalen. Het primaire evaluatiecriterium bij een acute toxiciteitstest is de dood van het testorganisme. Over het algemeen kan de mortaliteit zonder problemen worden vastgesteld. Effecten van niet-lethale aard, zoals immobiliteit, evenwichtsverlies, verstoord gedrag bij het zwemmen, verkleuring enz., kunnen tijdens een acute toxiciteitstest eveneens worden geobserveerd. Deze effecten kunnen bij de resultaten gerapporteerd worden met een duidelijke omschrijving ervan, doch een exacte kwantificatie is zeer problematisch. Deze gegevens zijn dan ook louter informatief.

De experimenten werden uitgevoerd in een semi-statisch systeem bestaande uit polyethyleenbakken van 60 l. Semi-statische testen verschillen van statische testen door het feit dat het test-medium, zeewater met een correcte concentratie aan pollutant, op regelmatige tijdstippen wordt vernieuwd. Aldus worden concentratiewijzigingen ten gevolge van verdamping, opname door de organismen en chemische degradatie van de te onderzoeken stof, voorkomen. De frequentie van vernieuwing wordt echter ook bepaald op basis van de zuurstof-vraag van de testorganismen. In dit geval werd om de 24 uren vernieuwd.

Elk van de recipiënten, van een deksel voorzien teneinde evaporatie te vermijden, werd met 20 l testmedium gevuld.

Bij elke hernieuwing van het testmedium werden de fysico-chemische parameters gecontroleerd. Temperatuur ($12,0 \text{ }^\circ\text{C} \pm 1,0 \text{ }^\circ\text{C}$), pH (normale pH van het zeewater nl. $8,1 \pm 0,2$), saliniteit (30,0 %) en zuurstofgehalte

(liefst de verzadigingswaarde benaderend, doch niet beneden 70 à 80 ‰ van deze waarde) werden zo constant mogelijk gehouden.

Bij de keuze van de testorganismen werd rekening gehouden met de representativiteit voor het mariene ecosysteem van de Belgische kust, de gevoeligheid voor toxische effecten, het gemakkelijk houdbaar zijn onder laboratoriumomstandigheden en de beschikbaarheid. De proeven werden uitgevoerd op 20 testorganismen per aquarium.

Er werd gebruik gemaakt van 0-jarige schol (Pleuronectes platessa L.), van volwassen garnalen (Crangon crangon (L.)) en van mosselen (Mytilus edulis L.), resp. representatieve species voor platvissen, schaaldieren en weekdieren, d.w.z. organismen die in Belgische kustwateren veelvuldig voorkomen.

De eerste twee soorten zijn daarenboven van groot commercieel belang. Mosselen worden niet gekweekt op commerciële schaal langsheen de Belgische kust, doch het zijn uitstekende testdieren, omdat het "filterfeeders" zijn ; zij transporteren namelijk aanzienlijke hoeveelheden water door hun kieuwen, niet alleen uit oogpunt van zuurstofopname, maar ook voor de opname van hun voedsel. Een mossel met een lengte van 5 à 6 cm filtreert 60 tot 120 l water per dag, waardoor dit organisme zeer gevoelig is voor afvalstoffen aanwezig in het water, zelfs bij zeer lage concentraties. Daar de afvalstoffen aldus ook doorheen het spijsverteringsstelsel worden getransporteerd, kunnen bepaalde bestanddelen ervan in de weefsels accumuleren. De hoeveelheden geaccumuleerd materiaal zijn evenredig met de respectievelijke concentraties in het omringende waterige milieu, waardoor mosselen niet alleen geschikt zijn als testorganisme, maar ook als monitoringorganisme.

De organismen werden in het infra-littoraal gerecruteerd door middel van handbediende sleepnetten. Hierbij werd gebruik gemaakt van het feit dat vele bentische soorten, waaronder schol en garnalen, zich bij ebbe terugtrekken vanuit de intertidale strook tot beneden de dieper

gelegen laag-laag-waterlijn waar zij zich bij laag tij in grote getale bevinden.

De dieren moesten trapsgewijs aan de laboratoriumomstandigheden worden aangepast. Gedurende deze minstens één week durende adaptatieperiode werden zij met aangepast voedsel gevoederd en dit tot 24 uren vóór het begin van de testen. Tijdens de 96-uren-proeven werd geen voedsel toegediend. Wanneer het langer durende testen betrof, werd elke dag gevoederd. De etensresten werden in dat geval na 1 uur verwijderd.

Voor de hoge concentraties om het uur, voor de lage concentraties om de 24 u, werd het aantal levende organismen genoteerd en werden de dode individuen verwijderd. Bij de garnalen werd hierbij rekening gehouden met het onderling cannibalisme van de dieren tijdens het verschalen.

Bij het uitvoeren van de toxiciteitsproeven werd 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. Volgende diluties werden gebruikt : 100.000 - 10.000 - 1.000 - 100 - 10 ppm.

Deze testen werden enkel uitgevoerd op schol en garnalen omdat de mosselen zeer frequent minder gevoelig zijn voor toxische componenten en over het algemeen eerder ongevoelig kunnen worden genoemd in toxiciteitstesten van korte duur ; door het dichtknijpen van de valven kunnen zij zichzelf voor verschillende dagen volledig van de buitenwereld afsluiten. Zodoende is een toxiciteitstest van 24 uren hier waardeloos en moet een acute toxiciteitstest met mosselen 2 tot 4 weken duren.

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} bekomen

(LC_{50} = de concentratie van de testverbinding voor dewelke in een opgegeven tijd 50 % van de organismen dood zijn).

In de volgende fase van het toxiciteitsonderzoek werden de grenzen binnen dewelke zich de LC_{50}^{24} bevindt, opgesplitst in een geometrische reeks met faktor $10^{0,25}$, hetgeen gebruikelijk is voor een routinetoxiciteitstest.

Waar meer accuraatheid vereist was, werd een geometrische reeks met faktor $10^{0,125}$, aangewend.

De acute testen bleven 96 uren doorlopen.

Wegens het problematisch karakter van de betrokken afvalstof bleek het nodig over te stappen op subchronische testen met een duur van maximaal 28 dagen.

Voor elke concentratie werd het percentage overlevenden tegenover de tijd uitgezet. Hieruit kon de ET_{50} worden afgeleid (Median Effective Time), d.w.z. de tijd nodig opdat bij een bepaalde concentratie van het pollutant 50 % van de testpopulatie een effect heeft ondergaan. Bij acute toxiciteitstesten is het bestudeerde effect de dood.

De bekomen ET_{50} 's werden in functie van de respektievelijke concentraties op logaritmisch papier uitgezet. Op deze manier werd een distributiecure bekomen voor de mortaliteit die typisch is voor de aard van het pollutant en waaruit de TL_m -waarde (Median Tolerance Limit of de median Lethal Threshold concentration) kan worden afgeleid, d.w.z. de drempelconcentratie voor 50 % mortaliteit. Deze drempelwaarde is de belangrijkste parameter in toxiciteitsstudies. In de regel moet iedere test, indien mogelijk, verder gezet worden tot deze waarde wordt bekomen.

Een normale ET_{50} -concentratiecurve verloopt hyperbolisch. De ET_{50} -curve loopt dan parallel met de tijd-as en de asymptoot geeft de drempelconcentratie die kan worden beschouwd als een benaderende waarde voor de "no-effect-level" of de concentratie beneden dewelke zich geen acuut-toxische effecten manifesteren, ook niet bij verder doorvoeren van de test in de tijd.

Wanneer de ET_{50} -concentratiecurve een rechte is dan zijn verschillende interpretaties mogelijk, nl. :

- de testduur is te kort,
- de waarnemingen werden te laat gestart,
- de waarnemingen werden te laat gestart en te vroeg beëindigd.

Een dergelijke "rechte" ET_{50} -concentratiecurve is een goede reden om (sub)chronische studies aan te vatten en/of bio-accumulatie onderzoek te overwegen.

Convexe curven komen zelden voor en wijzen op een complexe situatie. De teststof kan bv. een combinatie zijn van een substantie met lage toxiciteit en snel effect, samen met een substantie met hoge toxiciteit en traag effect. Soms kan de verbinding een substantie bevatten die laag-toxisch is, doch in de loop van de test in een hoog-toxische substantie wordt omgezet. Bij dergelijke convexe curven is interpretatie zeer moeilijk.

De LC_{50}^{96} -waarde, eveneens een belangrijke parameter van het toxiciteitsonderzoek, werd afgeleid uit het overlevings-concentratieverband na 96 uren proeftijd ; het is de concentratie bij dewelke na 96 uren, 50 % van de organismen dood zijn.

3. RESULTATEN

3.1. Testen op de afvalstof verdund in synthetisch zeewater.

In een eerste fase werd het onderzoek verricht met de afvalstof als dusdanig in synthetisch zeewater (*) verdund, zoals in de door ons aangewende standaardprocedure en dit op drie organismen nl. de grijze garnaal (Crangon crangon (L)), pladijs (Pleuronectes platessa L.) en mossel (Mytilus edulis L.).

3.1.1. LC_{50} - en ET_{50} -proeven op Crangon crangon (L).

Aan de hand van de voorafgaandelijke screening test kon worden afgeleid dat de LC_{50}^{24} gelegen was tussen 1.000 en 10.000 ppm (fig. 1). Voor een routinetoxiciteitstest worden deze grenzen meestal opgesplitst in een geometrische reeks met faktor $10^{0,25}$ (= 1,8), zodat aldus meestal 5 concentraties tegelijk worden uitgetest. Daar deze afvalstof een speciaal geval bleek, was accuraat toxiciteitsonderzoek noodzakelijk en werd een geometrische reeks met faktor $10^{0,125}$ (= 1,3) aangewend. Daarvoor was het nodig om van de acute testen over te stappen op subchronische testen met een duur van 28 dagen. Aangezien bij de bovengrens van 10.000 ppm, de testpopulatie niet volledig dood was, werd de geometrische reeks naar boven toe uitgebreid en vermits het tijdschema in een subchronische test, per definitie langer is, werd de reeks veiligheidshalve ook naar beneden toe uitgebreid. Zodoende werd volgende concentratiereeks aan een ET_{50} -test onderworpen : 0 - 320 - 1.000 - 3.200 - 5.600 - 7.500 - 10.000 - 13.500 ppm (fig. 2). De overlevings-tijd-relaties gedurende de 28-dagen durende test zijn de volgende :

(*) H.W. Meeressalz, geleverd door H. Wiegandt, Krefeld, West-Duitsland.

$ET_{50}^{13.500}$	=	1 u
$ET_{50}^{10.000}$	=	26,5 u
$ET_{50}^{7.500}$	=	86 u
$ET_{50}^{5.600}$	=	168 u
$ET_{50}^{3.200}$	=	192 u
$ET_{50}^{1.000}$	=	240 u
ET_{50}^{320}	=	288 u

Deze ET_{50} -waarden, in uren uitgedrukt, werden vervolgens logaritmisch in functie van hun resp. concentraties uitgezet. De aldus afgeleide mortaliteitsdistributiecurve (fig. 3) bleek een convex verloop te hebben, waaruit geen TL_m -waarde kon worden afgeleid.

De overlevings-concentratie-verwantschap na 24, 48, 72 en 96 uren is als volgt (fig. 4) :

LC_{50}^{24}	=	9.500 ppm
LC_{50}^{48}	=	8.500 ppm
LC_{50}^{72}	=	7.000 ppm
LC_{50}^{96}	=	6.000 ppm

Als additionele informatie worden de resultaten weergegeven van een 18-dagen durende test met een meer gevoelige populatie organismen (populatie 2), nl. gevangen in wintertijd en uitgetest in volgende

concentratierreeks : 0 - 10 - 18 - 32 - 56 - 100 - 180 ppm (fig. 5).

De ET_{50} -waarden zijn de volgende :

$ET_{50}^{100-180}$	=	11 d	=	264 u
ET_{50}^{56}	=	12 d	=	288 u
ET_{50}^{18-32}	=	14 d	=	336 u
ET_{50}^{10}	=	15 d	=	360 u

Uit het overeenkomstig mortaliteits-concentratie-verwantschap (fig. 6) blijkt dat de distributie haar convex verloop blijft behouden, zelfs bij zeer grote diluties.

3.1.2. LC_{50} - en ET_{50} - proeven op Pleuronectes platessa L.

Naar analogie met de proeven op garnaal werd voor de subchronische test van 28 dagen volgende concentratierreeks weerhouden : 0 - 560 - 1.000 - 2.400 - 3.200 - 4.200 - 5.600 - 7.500 - 10.000 - 13.500 ppm (fig. 7-8).

Uit de overlevings-tijd-verwantschap konden volgende ET_{50} -waarden worden afgeleid :

$ET_{50}^{13.500}$	=	1 u
$ET_{50}^{10.000}$	=	13 u
$ET_{50}^{7.500}$	=	69 u
$ET_{50}^{5.600}$	=	120 u

$$ET_{50}^{4.200} = 216 \text{ u}$$

$$ET_{50}^{1.000} = 588 \text{ u}$$

De mortaliteit-concentratie-verbandschap leidt tot een mortaliteitsdistributiecurve met hetzelfde convexe verloop als bij garnalen het geval was, zodat ook voor platvis wegens de afwezigheid van een asymptoot geen TL_m -waarde kon worden vastgelegd (fig. 9).

Uit de overeenkomstig overlevings-concentratie verbandschap konden volgende LC_{50} -waarden worden afgeleid (fig. 10) :

$$LC_{50}^{24} = 9.500 \text{ ppm}$$

$$LC_{50}^{48} = 8.500 \text{ ppm}$$

$$LC_{50}^{72} = 7.000 \text{ ppm}$$

$$LC_{50}^{96} = 5.500 \text{ ppm}$$

3.1.3. ET_{50} -proeven op Mytilus edulis L.

De overlevings-tijd-verbandschap van de 21-dagen durende test voor een concentratiereeks 0 - 1.000 - 1.800 - 3.200 - 5.600 - 7.500 - 10.000 - 13.500 ppm (fig. 11) leidde tot volgende ET_{50} -waarden :

$$ET_{50}^{13.500} = 270 \text{ u}$$

$$ET_{50}^{10.000} = 390 \text{ u}$$

$$ET_{50}^{7.500 - 5.600 - 3.200 - 1.800 - 1.000} > 504 \text{ u}$$

Uit de logaritmische mortaliteit - concentratieverwantschap, met slechts twee punten, was het onmogelijk om tot een mortaliteitsdistributiecurve te komen (fig. 12). De richting van de bekomen rechte wijst wel op een te korte testduur voor deze organismen. In dit geval ligt het voor de hand om op een chronische test over te stappen, doch daar uit de overeenkomstige ET_{50} -waarden voor platvis en garnaal (tabel 1) bleek dat mosselen minder gevoelig waren, werd besloten het onderzoek met dit organisme hiermee af te ronden.

Tabel 1 - ET_{50} -waarden (uren) : afval in synthetisch zeewater

	Garnalen	Platvis	Mosselen
$ET_{50}^{13.500}$	1	1	270
$ET_{50}^{10.000}$	26.5	13	390
	Shrimps	Flatfish	Mussels

Table 1 - ET_{50} -values (hours) ; waste in synthetic seawater

De temperatuur tijdens de proeven werd zo constant mogelijk gehouden ($12,0\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 0,1\text{ }^{\circ}\text{C}$). De opgeloste zuurstof varieerde van 97-100 % van de verzadigingswaarde.

De zuurtegraad wordt weergegeven in tabel 11 (p. 30).

Het zoutgehalte varieerde tussen 30,1 ‰ (bij 320 ppm) en 33,1 ‰ (bij 32.000 ppm).

3.2. Testen op de anorganische fractie van de afvalstof verdund in synthetisch zeewater.

Wegens het abnormaal verloop van de mortaliteitsdistributiecurve, nl. een convexe curve, was het niet mogelijk om een tolerantielimiet te

bereiken, noch voor Crangon crangon (L), noch voor Pleuronectes platessa L. Een eerste voor de hand liggende vraag kan hierbij gesteld worden, nl. wat is het aandeel van de organische bestanddelen in het toxisch effect. Daarom werd de anorganische fractie van de afvalstof waarvan de samenstelling door de fabriek werd opgegeven in het laboratorium gesimuleerd en hierop werd een analoge reeks toxiciteitstesten uitgevoerd.

3.2.1. ET_{50} -proeven op Crangon crangon (L).

Uit de overlevings-tijd-verwantschap van een 16-dagen durende test konden volgende ET_{50} -waarden worden afgeleid (fig. 13) :

$ET_{50}^{32.000}$	=	0,5 u
$ET_{50}^{18.000}$	=	10 u
$ET_{50}^{13.500}$	=	48 u
$ET_{50}^{10.000}$	=	108 u
$ET_{50}^{3.200}$	=	192 u
$ET_{50}^{1.000}$	=	240 u
ET_{50}^{320}	=	257 u

In de overeenkomstige mortaliteit-concentratie-verwantschap wordt opnieuw een convexe curve bekomen zonder tolerantielimiet (fig. 14).

3.2.2. ET_{50} -proeven op Pleuronectes platessa L.

Tijdens de 21-dagen durende proef konden volgende ET_{50} -waarden in overlevings-tijd-verwantschap worden bepaald (fig. 15) :

$ET_{50}^{13.500}$	=	120 u	
$ET_{50}^{10.000}$	=	240 u	
$ET_{50}^{7.500}$	=	408 u	
$ET_{50}^{5.600 - 4.200 - 3.200 - 2.400}$			> 504 u

Opnieuw was de afwezigheid van een hyperbolische curve voor de mortaliteitsdistributie duidelijk (fig. 16).

Uit voorgaande reeks proeven bleek dat de organische bestanddelen een belangrijk aandeel hebben in het toxisch effect van de afvalstof als dusdanig. Dit blijkt uit de verschillen in de overeenkomstige ET_{50} -waarden bij de hogere concentraties (tabellen 2 en 3).

Tabel 2 - ET_{50} -waarden (uren) voor garnaal ; synthetisch zeewater

	Afvalstof	Anorganische fractie
$ET_{50}^{13.500}$	1	48
$ET_{50}^{10.000}$	26.5	108
$ET_{50}^{1.000}$	240	240
	Waste	Anorganic fraction

Table 2 - ET_{50} -values (hours) for shrimps ; synthetic seawater

Tabel 3 - ET₅₀-waarden (uren) voor platvis ; synthetisch zeewater

	Afvalstof	Anorganische fractie
ET ₅₀ ^{13.500}	1	120
ET ₅₀ ^{10.000}	13	240
ET ₅₀ ^{7.500}	69	408
	Waste	Anorganic fraction

Table 3 - ET₅₀-values (hours) for flatfish ; synthetic seawater

Voor de lagere concentraties of meer bepaald voor de tijd waarbij de drempel van de convexe mortaliteitsdistributiecurve wordt bereikt, blijken de ET₅₀-waarden gelijk te lopen, zowel met als zonder de organische bestanddelen (ET₅₀^{1.000} in tabel 2). Dit wijst erop dat ook het mechanisch effect een belangrijk aandeel heeft in de globale toxiciteit.

Uit het overlevings-concentratie-**verwantschap** bleek dat de waarden voor garnalen en platvis na maximaal 96 uren, voor de beide organismen gelijklopend zijn (tabel 4).

Tabel 4 - LC₅₀-waarden ; afvalstof in synthetisch zeewater

	Garnalen	Platvis
LC ₅₀ ²⁴ (ppm)	9.500	9.500
LC ₅₀ ⁴⁸ (ppm)	8.500	8.500
LC ₅₀ ⁷² (ppm)	7.000	7.000
LC ₅₀ ⁹⁶ (ppm)	6.000	5.500
	Shrimps	Flatfish

Table 4 - LC₅₀-values ; waste in synthetic seawater

Uit de overlevings-tijd-verwantschap van de twee betrokken organismen bleek dat voor de hogere concentraties het toxisch effect sneller toeslaat bij platvis dan bij garnalen, doch dat bij de lagere concentraties het toxisch effect minder acuut is bij platvis dan bij garnalen (tabel 5). Het convex verloop van de mortaliteitsdistributiecurve is dan ook het meest uitgesproken bij garnalen (fig. 3-9) waar de tijdsdrempel het snelst wordt bereikt. Om die reden werden de proeven enkel met Crangon crangon (L.) als testorganisme verder gezet.

De oorzaak voor het verschillend gedrag van beide testorganismen moet waarschijnlijk gezocht worden in het synergisme van een reëel toxisch effect en een mechanisch effect waarmee men met deze afvalstof wordt geconfronteerd. Het aandeel van ieder effect afzonderlijk is verschillend, afhankelijk van de soort van testorganisme.

Tabel 5 - ET_{50} -waarden (uren) ; afvalstof in synthetisch zeewater

	Garnalen	Platvis
$ET_{50}^{13.500}$	1	1
$ET_{50}^{10.000}$	26,5	13
$ET_{50}^{7.500}$	86	69
$ET_{50}^{5.600}$	168	120
$ET_{50}^{1.000}$	240	588
	Shrimps	Flatfish

Table 5 - ET_{50} -values (hours) ; waste in synthetic seawater

3.3. Testen op de afvalstof verdund in natuurlijk zeewater.

Uit onderzoeken die door het bedrijf in de Verenigde Staten werden gedaan en waarvan de resultaten werden medegedeeld, bleek dat de vlok-vorming na contact van de afvalstof met het synthetisch zeewater werd geactiveerd t.o.v. de vlokworming die optreedt in natuurlijk zeewater en dit door de aanwezigheid van carbonaat.

Daar de eventuele vermindering van deze vlokvorming van belang kon zijn voor de vermindering van de mortaliteit tengevolge van het mechanisch effect, werd besloten de proeven te herhalen, doch met natuurlijk zeewater als medium.

ET₅₀ - LC₅₀ -proeven op Crangon crangon (L.)

De overlevings-tijd-verwantschap in een 18-dagen durende test (fig. 17) leidde tot volgende ET₅₀-waarden :

ET ₅₀ ^{32.000}	=	0 u 7 min.
ET ₅₀ ^{10.000}	=	3 u
ET ₅₀ ^{5.600}	=	294 u
ET ₅₀ ^{3.200}	=	342 u
ET ₅₀ ^{1.000}	=	372 u

De daaruit afgeleide mortaliteit-concentratie-verwantschap had een convex verloop (fig. 18 a). Uit fig. 19a kon het overlevings-concentratie-verband na 96 uren worden afgeleid, nl. LC₅₀⁹⁶ = 7.000 ppm.

3.4. Testen op de anorganische fractie van de afvalstof verdund in natuurlijk zeewater.

ET_{50} - en LC_{50} -proeven op Crangon crangon (L.)

Overlevings-tijd-verwantschap voor een 18-dagen durende test is de volgende (fig. 20) :

$ET_{50}^{32.000}$	=	0,5 u
$ET_{50}^{10.000}$	=	108 u
$ET_{50}^{5.600}$	=	306 u
$ET_{50}^{3.200}$	=	336 u

Uit figuur 18b bleek opnieuw het convexe verloop van de mortaliteits-distributiecurve.

De overlevings-concentratie-verwantschap (fig.19b) leidt tot een

LC_{50}^{96}	=	11.000 ppm
----------------	---	------------

3.5. Testen op het filtraat van de afvalstof verdund in synthetisch zeewater na filtratie.

Uit de resultaten van alle voorgaande proeven bleek dat de door betrokken afvalstof veroorzaakte mortaliteit voor een groot deel aan het mechanisch effect moet toegeschreven worden.

Om een estimatie te verkrijgen van het aandeel dat het mechanisch effect heeft t.o.v. het acuut toxisch effect, werd een serie testen uitgevoerd op een concentratiereeks waarbij voor elke verdunning de gevormde vlokken werden afgefiltreerd. De testen werden uitgevoerd op de overeenkomstige filtraten.

LC_{50} - en ET_{50} -waarden voor Crangon crangon (L.)

Uit de voorafgaandelijke screening-test bleek dat de LC_{50}^{24} gelegen was tussen 10.000 en 100.000 ppm (fig. 21).

In een 10-dagen durende test werd volgende concentratiereeks uitgetest :
0 - 10.000 - 18.000 - 22.000 - 26.000 - 32.000 - 56.000 - 100.000 ppm.

De overlevings-tijd-verwantschap gaf aanleiding tot volgende ET_{50} -waarden (fig. 22 en 23) :

$ET_{50}^{100.000 - 56.000 - 32.000}$	=	15 min.
$ET_{50}^{26.000}$	=	30 min.
$ET_{50}^{22.000}$	=	37 u
$ET_{50}^{18.000}$	=	180 u

Deze ET_{50} -waarden logaritmisch uitgezet t.o.v. de overeenkomstige concentraties gaven in dit geval een mortaliteitsdistributiecurve met hyperbolisch verloop, hetzij de normale curve (fig. 24). De asymptotische ET_{50} -waarde of de lethale drempelconcentratie is hier bereikt bij een TL_m van 15.000 ppm. De overlevings-concentratie-verwantschap geeft aanleiding tot :

$$LC_{50}^{96} = 20.000 \text{ ppm (fig. 25)}$$

De zuurtegraad en het zoutgehalte tijdens de proeven worden weergegeven in tabel 12 (p. 30).

DISCUSSIE EN BESLUITEN

De lethale drempelconcentratie, die in toxiciteitsstudies de meest belangrijke parameter is, kon met deze afvalstof niet worden bereikt. Alle testen leidden tot een mortaliteitsdistributiecurve met convex verloop hetgeen als problematisch moet worden beschouwd.

Mosselen bleken duidelijk minder gevoelig t.o.v. de afvalstof dan garnalen en platvis. Het convex verloop van de mortaliteitsdistributiecurve, zowel vastgesteld bij garnalen als bij platvis was echter het meest uitgesproken bij garnalen ; de tijdsdrempel werd het snelst bereikt of m.a.w. de garnalen bleken het meest gevoelig.

Uit het verschil tussen de resultaten die werden bekomen met de afvalstof als dusdanig en met de anorganische fractie van de afvalstof zonder de organische bestanddelen (tabellen 2 en 3), kan worden besloten dat de toxiciteit die door de organische bestanddelen wordt veroorzaakt niet onbelangrijk is. De mortaliteitsdistributiecurve heeft in beide gevallen echter een convex verloop (fig. 3-14) en de numerieke waarde van de drempel is in beide gevallen overigens ook vrij analoog. Dit zou erop kunnen wijzen dat het mechanisch effect eveneens een belangrijke rol speelt in de veroorzaakte lethaliteit. Uit studies die in de Duitse Bondsrepubliek en in Groot-Brittannië (8)(12)(13) werden verricht, blijkt dat de verhoogde mortaliteit, veroorzaakt door het mechanisch effect van een vlokvormige neerslag, wordt veroorzaakt door :

- verhoogde produktie van pseudo-faeces, hetgeen gepaard gaat met een verhoogde slijmvorming en een verhoogd verlies van organische bestanddelen ;
- overeenkomstige verhoging in het aantal algencellen dat door de pseudo-faeces wordt omvat, met een verlaging van het aantal algencellen dat als voedsel voor de dieren beschikbaar is tot gevolg ;

- verhoogde hoeveelheid onverteerbaar materiaal binnen de spijsverteringskanaal, resulterend in een verder verlies aan organisch materiaal veroorzaakt door een hoge fractie aan afvalprodukten binnen de excretiesferen.

Hieruit blijkt dat de mortaliteit in een dergelijk geval niet door acute toxiciteit van de vlokken wordt veroorzaakt, doch door een verlies aan organisch materiaal en een reductie van de voor de organismen ter beschikking staande hoeveelheid voedsel in het milieu. Aldus mag worden veralgemeend dat een verhoging aan substanties die turbiditeit veroorzaken, zelfs deze zonder inherente toxiciteit, schadelijk kunnen zijn wanneer zij in zee worden geloosd.

Uit de testen die bij de lage concentraties werden uitgevoerd en waarbij het convex verloop van de mortaliteitsdistributiecurve aangehouden blijft, zelfs bij zeer grote diluties, ligt het verder niet onmiddellijk voor de hand om aan te nemen dat voor deze afvalstof, het mechanisch effect een doorslaggevende rol speelt. De vraag kan hierbij worden gesteld of geen andere factoren, zoals bijvoorbeeld de aanwezigheid van aluminium, een aandeel kunnen hebben in het toxisch effect.

Aluminium in water komt voor onder de vorm van het aluminaat anion, van het moleculair aluminiumhydroxide (in suspensie) en van het aluminium kation (9). De toxiciteit van aluminium is functie van de concentratie, doch ook van de pH. Onderzoekingen (10) hebben uitgewezen dat testoplossingen die 5,2 mg/l totaal aluminium bevatten meer toxisch zijn voor pH-aangepaste-forellen naarmate de pH stijgt tussen pH 7 en pH 9. Daar de verhouding aan opgelost t.o.v. gesuspendeerd Al ook toeneemt met de pH (tabel 6), laat dit toe te veronderstellen dat de acute toxiciteit van aluminiumhydroxide voor forel, toe te schrijven is aan het aluminaat.

Met deze afvalstof, die op zich al alkalisch is (8,2% NaOH) en die uitgetest werd in oplossing met zeewater dat een hoge alkaliniteit heeft, is het dus niet uitgesloten dat het aanwezige aluminium een essentiële rol zou kunnen spelen in de veroorzaakte lethaliteit.

In een onderzoek (11) over het accumulatievermogen van diverse elementen in mariene organismen, werd vastgesteld dat aluminium kan worden geabsorbeerd door het voedselkanaal en aldus wordt geconcentreerd in het spierweefsel van vissen en van crustacea, alsook in de zachte delen van mollusken.

Tabel 6 - Distributie van aluminium in functie van de pH

Totaal toegevoegd Al (ppm)	pH*			
	7.0	8.0	8.5	9.0
5.2	1 % opg. 99 % sus.	10 % opg. 90 % sus.	32 % opg. 68 % sus.	100 % opg.
0.52	10 % opg. 90 % sus.	100 % opg.	100 % opg.	100 % opg.
0.052	100 % opg.	100 % opg.	100 % opg.	100 % opg.
Total aluminium added (ppm)	pH*			

Table 6 - Distribution of aluminium as a function of pH

* opg. : opgelost - dissolved
 sus. : in suspensie - suspended

Bij het onderzoek met natuurlijk zeewater werd het verschil in vlok-
 vorming nagegaan voor een oplossing van 10.000 ppm, éénmaal met synthetisch
 zeewater als medium, éénmaal met natuurlijk zeewater als medium - dit zo-
 wel voor de afvalstof als dusdanig als voor het zoutmengsel. Het neerslag
 werd afgefilterd, aan de lucht gedroogd en afgewogen. Uit tabel 7 blijkt
 dat in het geval van synthetisch zeewater als medium ca 20 % meer neerslag
 wordt gevormd. In tabel 8 wordt de analyse gegeven van de vlokken zelf,
 voor natuurlijk zeewater en voor synthetisch zeewater dat werd aangemaakt

met leidingswater. De grotere vlokvorming in het laatste geval mag worden toegeschreven aan het hoge gehalte aan calcium en aan carbonaat. Uit dit onderzoek bleek dat het toxisch effect met natuurlijk zeewater als medium ongeveer gelijk blijft (tabel 9 en 10). Het verschil is echter niet beduidend. De grootte-orde van de LC₅₀- en ET₅₀-waarden blijft dezelfde en het verloop van de mortaliteitsdistributiecurve blijft convex, met afwezigheid van een tolerantielimiet.

Tabel 7 - Vlokvorming in functie van het medium

10.000 ppm oplossing	gewicht neerslag (g) na 24 u	gewicht neerslag (g) na 96 u
afvalstof in synthetisch zeewater waste in synthetic seawater	14	12
afvalstof in natuurlijk zeewater waste in natural seawater	12	9
zoutmengsel in synthetisch zeewater salts in synthetic seawater	17	12
zoutmengsel in natuurlijk zeewater salts in natural seawater	24	10
10.000 ppm solution	weight precipitate (g) after 24 hours	weight precipitate (g) after 96 hours

Table 7 - Flocformation in function of the medium

Tabel 8 - Vlokanalyse in gewicht %

	Natuurlijk zeewater	Synthetisch zeewater
Ca	1,2	25,5
Mg	9,2	1,9
Al	4,0	1,2
CO ₃ ⁻	0,3	21,9
Cl ⁻	24,6	7,0
Na	9,7	3,0
	Natural seawater	Synthetic seawater

Table 8 - Analysis of floc (wt percent)

Tabel 9 - ET₅₀ (uren)- en LC₅₀ (ppm)-waarden voor garnaal ; afvalstof

	Synthetisch zeewater	Natuurlijk zeewater
ET ₅₀ ^{13.500}	1	48
ET ₅₀ ^{10.000}	26,5	108
ET ₅₀ ^{3.200}	192	192
ET ₅₀ ^{1.000}	240	240
ET ₅₀ ³²⁰	288	257
LC ₅₀ ⁹⁶	6.000	7.000
	Synthetic seawater	Natural seawater

Tabel 9 - ET₅₀ (hours)- and LC₅₀ (ppm)- values for shrimps ; waste

Tabel 10 - ET₅₀ (uren)- en LC₅₀ (ppm) voor garnaal ; anorganische fractie

	Synthetisch zeewater	Natuurlijk zeewater
ET ₅₀ ^{32.000}	1/8	1/2
ET ₅₀ ^{10.000}	3	102
ET ₅₀ ^{5.600}	294	306
ET ₅₀ ^{3.200}	342	336
LC ₅₀ ⁹⁶	7.000	11.000
	Synthetic seawater	Natural seawater

Table 10 - ET₅₀ (hours)- and LC₅₀ (ppm)-values for shrimps ; anorganic fraction

De resultaten van de testen die op het filtraat, na affiltreren van de gevormde vlokken bij de resp. verdunningen werden uitgevoerd en waar een duidelijke drempelconcentratie van 15.000 ppm kon worden genoteerd, wijzen andermaal op het belangrijke aandeel van het mechanisch effect. Opnieuw echter mag hieruit niet worden geconcludeerd dat het mechanisch effect alléén oorzaak zou zijn van de hier optredende mortaliteit, vermits met de afscheiding van de vlokken ook het aluminium en eventueel ook de aan het neerslag geadsorbeerde organische bestanddelen uit het testmedium werden verwijderd. De toxiciteit van de afvalstof waaruit het aluminaat is verwijderd, moet hoofdzakelijk worden toegeschreven aan het alkalisch karakter ervan.

Rekening houdend met het feit dat in dit geval nog een effluent met een goed gedefinieerde tolerantielimiet wordt overgehouden, kan de initiële dilutie die bij een eventuele dumping moet worden gerespecteerd, hier gemakkelijk worden berekend.

Als slotconclusie kan worden gesteld dat, gezien de afwezigheid van een drempelconcentratie voor alle onderzochte organismen, dumping van deze afvalstof ten zeerste moet worden afgeraden.

Er moet bij betrokken firma worden aangedrongen het productieproces dermate te wijzigen dat er geen vlokvormig aluminium residu kan worden gevormd.

Tabel 11 - Zuurtegraad (pH) tijdens de proeven

Concentratie (ppm)	A*	B	C	D
320	8,1	8,5	8,2	8,5
560	8,3	8,6	8,4	8,7
1.000	8,3	8,7	8,4	8,7
3.200	8,4	8,9	8,5	9,0
5.600	8,6	8,9	8,7	9,0
10.000	8,7	9,5	8,8	9,6
13.500	8,9	9,5	9,0	9,7
32.000	11,8	12,2	11,9	12,3

Concentration (ppm)	A*	B	C	D
---------------------	----	---	---	---

- *A : afvalstof in synthetisch zeewater
waste in synthetic seawater
- B : afvalstof in natuurlijk zeewater
waste in natural seawater
- C : anorganische fractie in synthetisch zeewater
anorganic fraction in synthetic seawater
- D : anorganische fractie in natuurlijk zeewater
anorganic fraction in natural seawater

Table 11 - Acidity (pH) during the tests

Tabel 12 - Zuurtegraad (pH) en zoutgehalte (‰) tijdens de proeven met de filtraten

Concentratie (ppm)	pH	‰
0	8,1	31,6
10.000	8,2	31,6
18.000	8,5	32,2
22.000	9,2	32,8
26.000	10,7	33,0
32.000	11,9	33,1
56.000	12,4	36,6

Concentration (ppm)	pH	‰
---------------------	----	---

Table 12 - Acidity (pH) and salinity (‰) during tests with the filtrates

Fig. 1 - Overlevings - concentratiecurve van een LC_{50}^{24} - test op Crangon crangon(L) (afvalstof verdund in synthetisch zeewater)

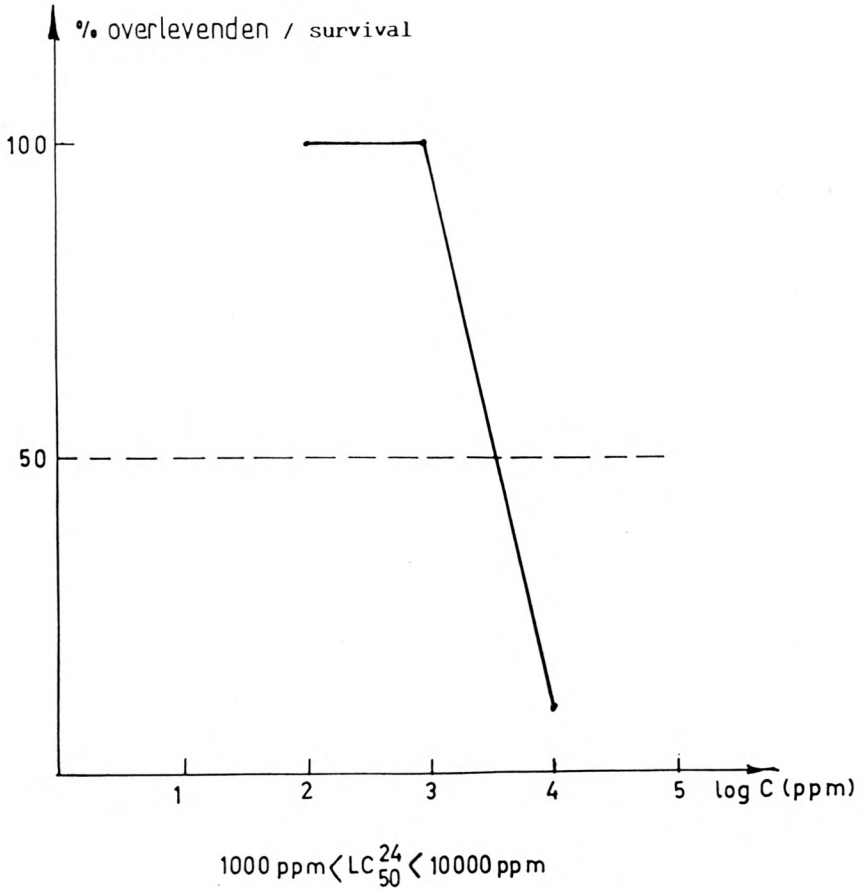


Fig 1 - Survival - concentration curve of a LC_{50}^{24} - test on Crangon crangon (L) (waste diluted in synthetic seawater)

Fig. 2 - Overlevings - tijd curven van een ET₅₀ - 28dagen test op Crangon crangon (L)
(afvalstof verdund in synthetisch zeewater.)

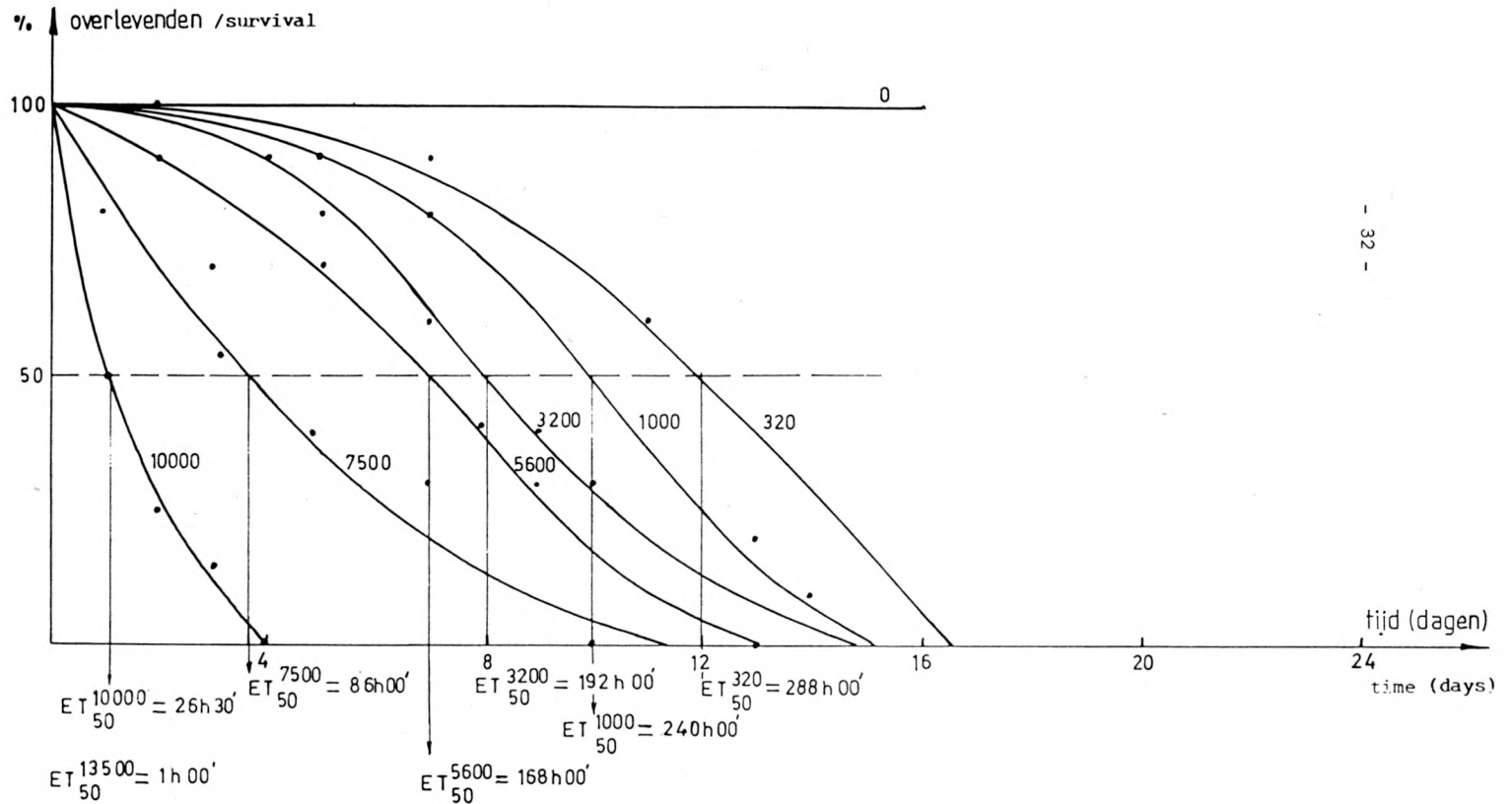


Fig 2 - Survival - time curves of a ET₅₀ - 28 days test on Crangon crangon (L)
(waste diluted in synthetic seawater)

Fig. 3 - Mortaliteitsdistributie curve voor Crangon crangon (L)
(afvalstof verdund in synthetisch zeewater)

Fig 3 - Mortality distribution curve for Crangon crangon (L)
(waste diluted in synthetic seawater)

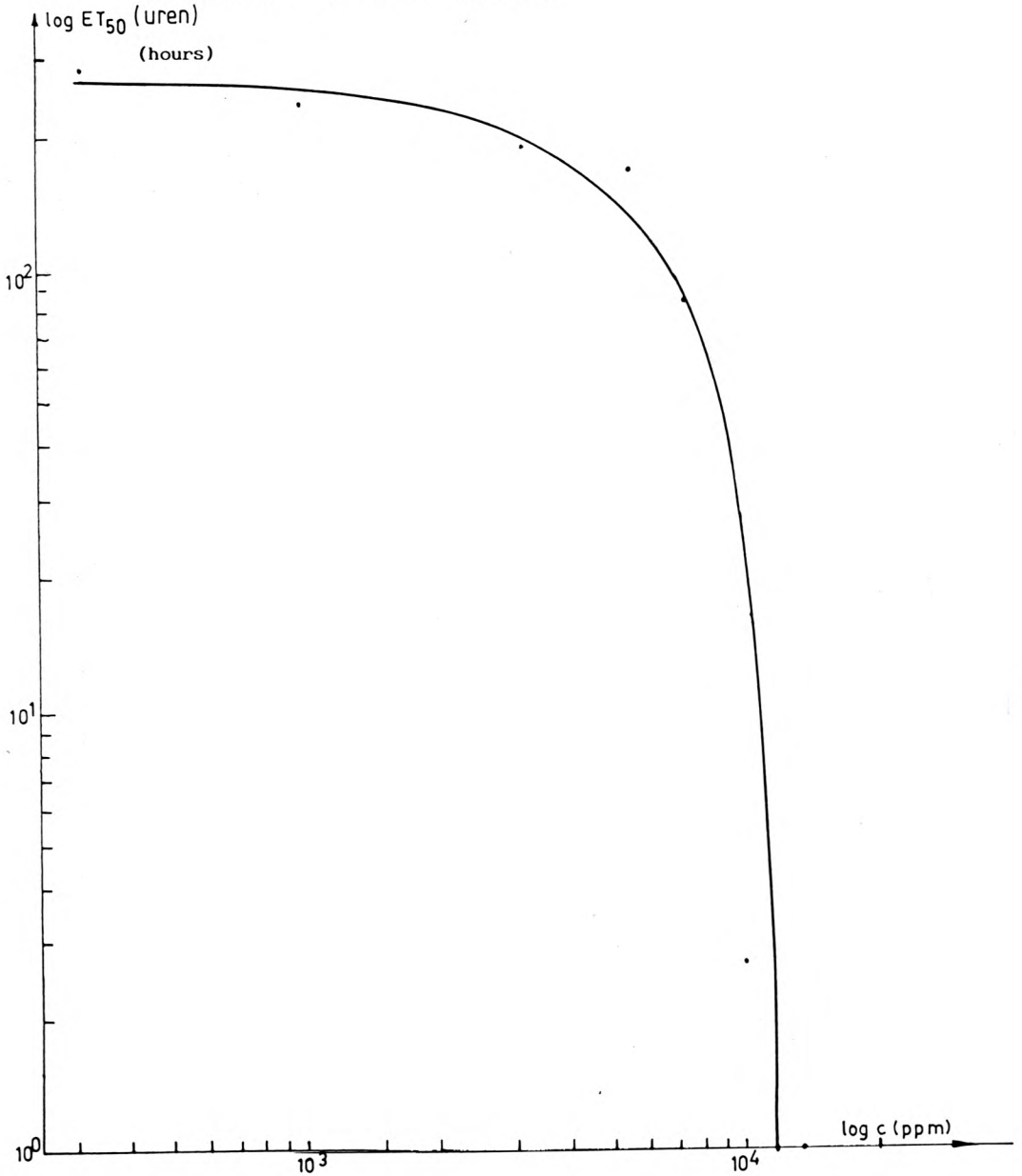


Fig. 4 - Overlevings - concentratiecurven van een LC_{50} -test op Crangon crangon(L)
(afvalstof verdund in synthetisch zeewater.)

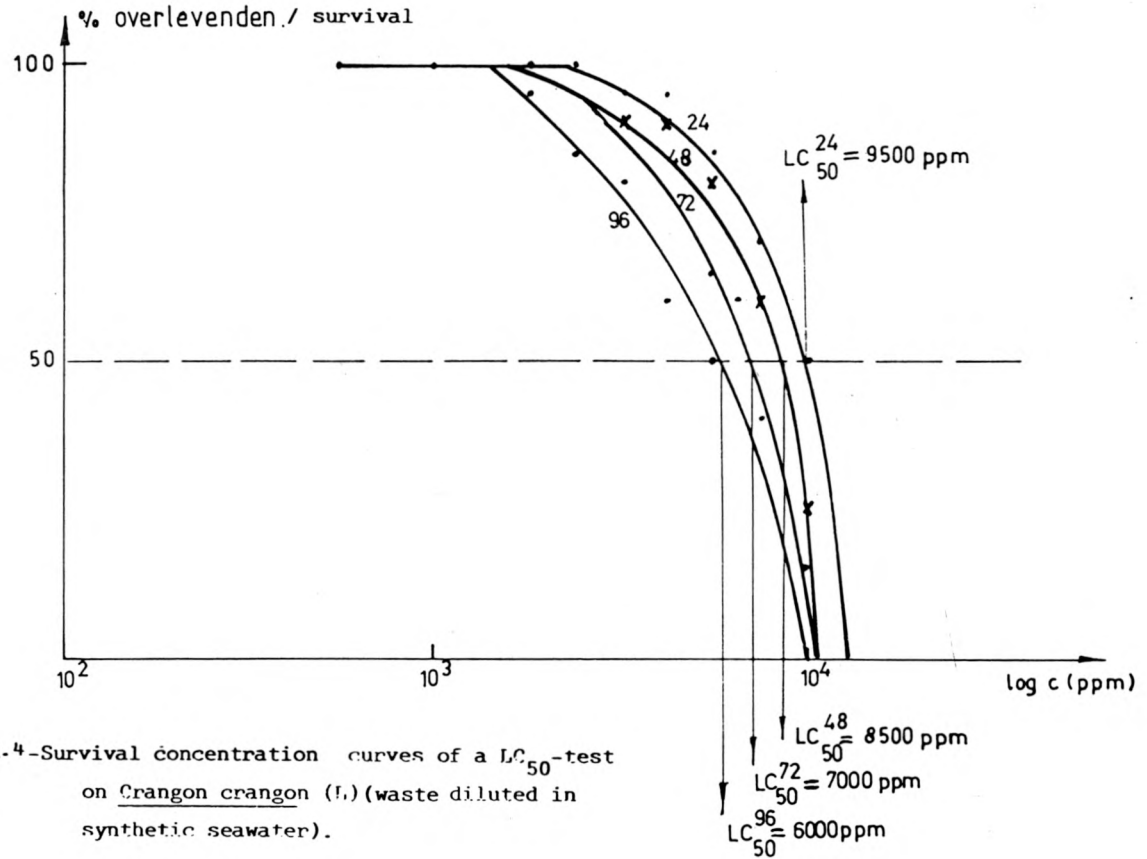


Fig.4-Survival concentration curves of a LC_{50} -test
on Crangon crangon (f.) (waste diluted in
synthetic seawater).

Fig. 5 - Overlevings - tijd - curven van een ET_{50} - 18 dagen test op Crangon crangon (L) - populatie 2
 (afvalstof verdund in synthetisch zee water.)

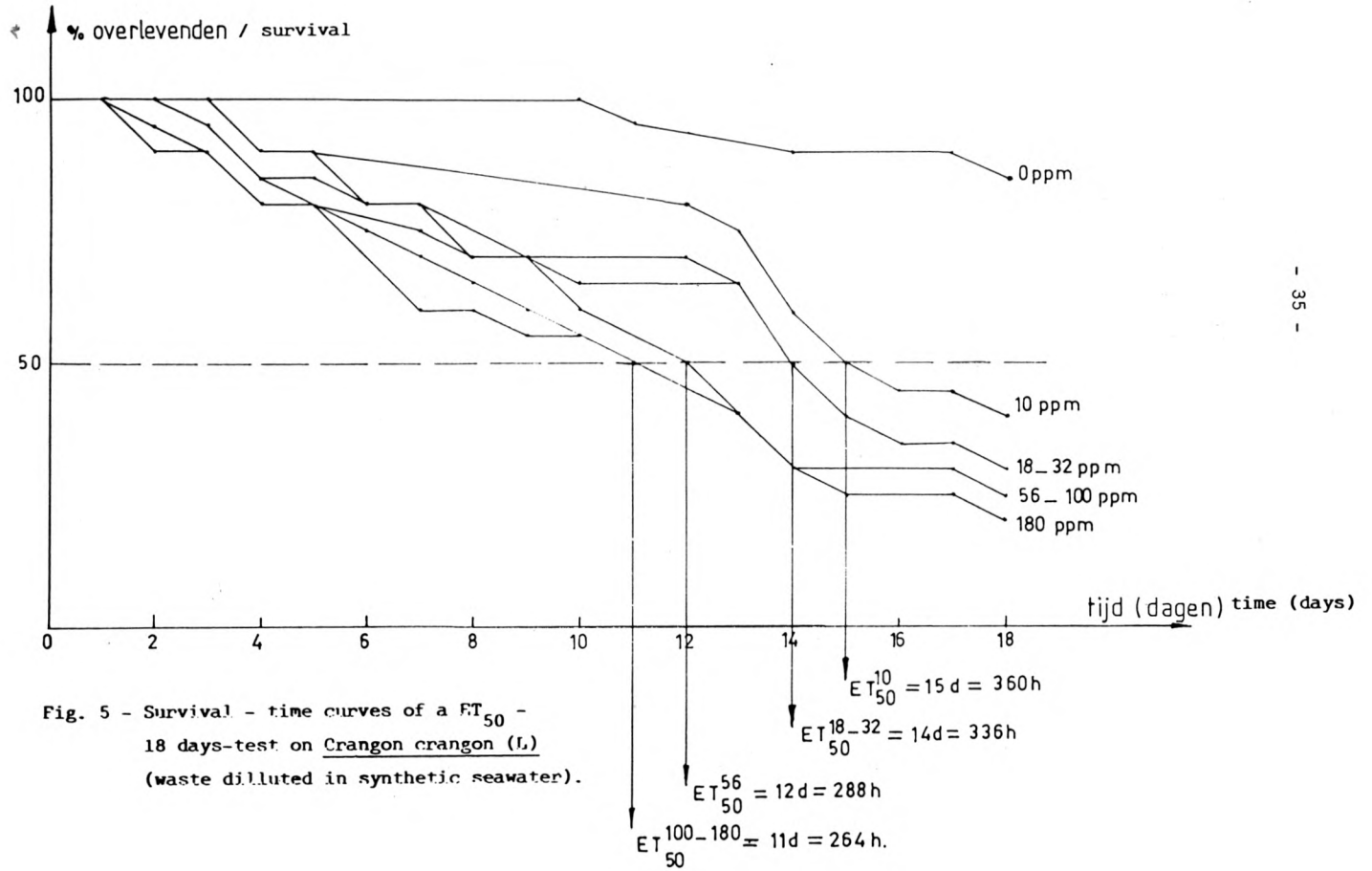


Fig. 5 - Survival - time curves of a ET_{50} -
 18 days-test on Crangon crangon (L)
 (waste diluted in synthetic seawater).

Fig.6 - Mortaliteitsdistributiekurve voor Crangon crangon(L)
(populatie 2 - afvalstof verdund in synthetisch zeewater.)

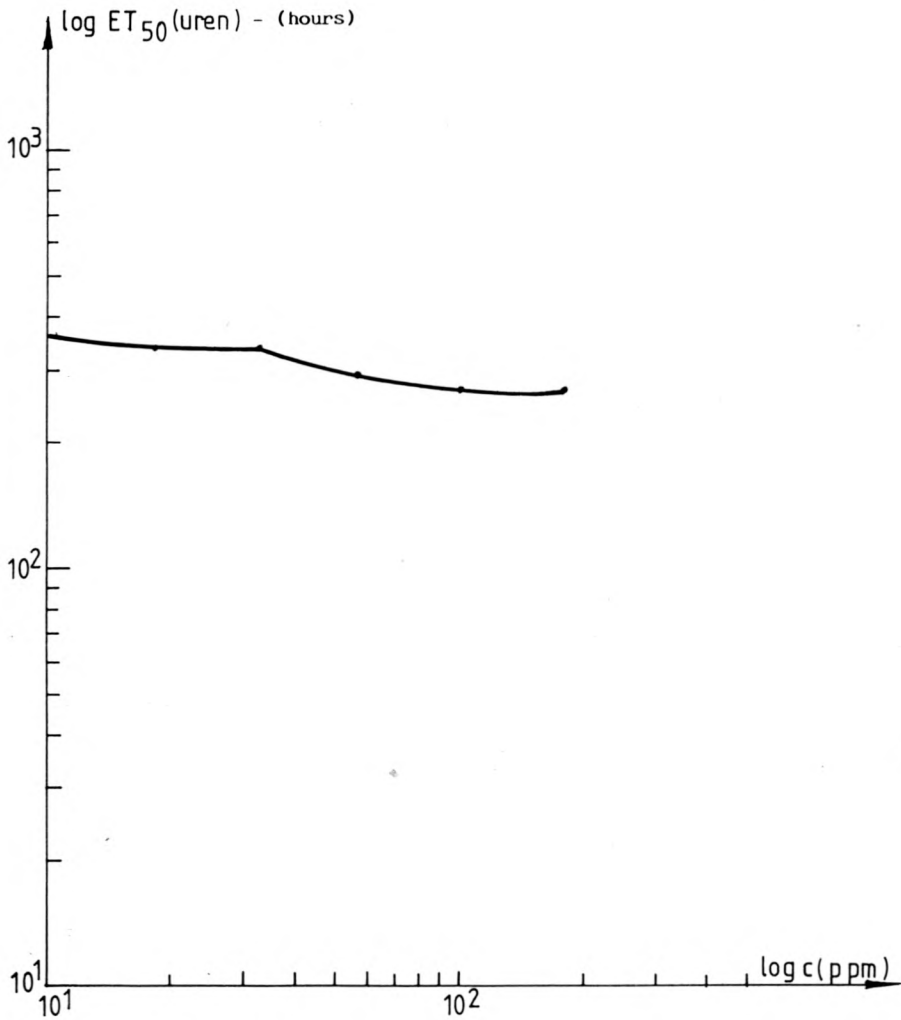


Fig. 6 - Mortalitydistribution curve for Crangon crangon (L) -
(population 2 - waste diluted in synthetic seawater).

Fig. 7 - Overlevings - tijd -curven van een ET₅₀ - 96 uren test op Pleuronectes platessa L.
(afvalstof verdund in synthetisch zeewater.)

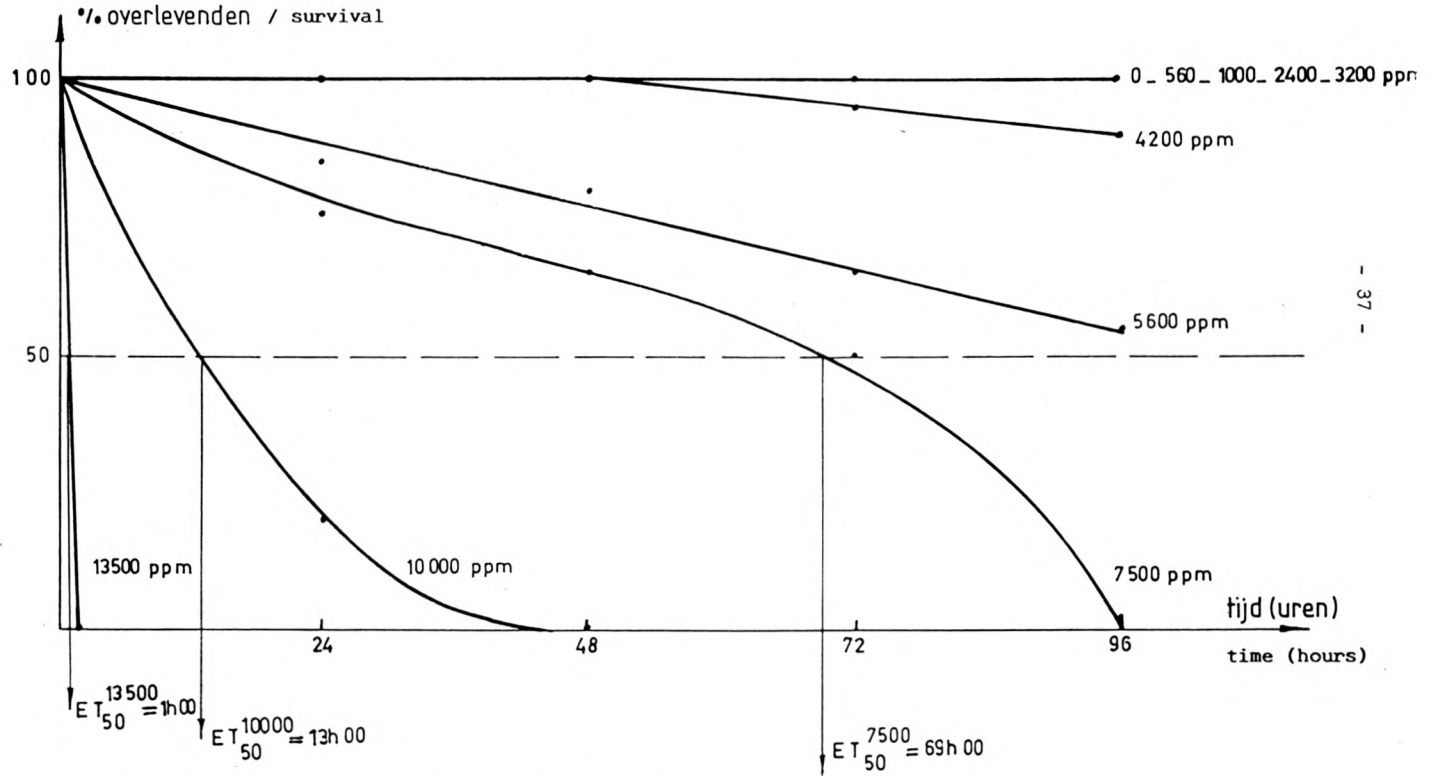


Fig. 7 - Survival-time curves of a ET₅₀-96 hours test on Pleuronectes platessa L.
(waste diluted in synthetic seawater).

Fig. 8 - Overlevings - tijd - curven van een ET_{50} - 28dagen test op Pleuronectes platessa L.
 (afvalstof verdund in synthetisch zeewater)

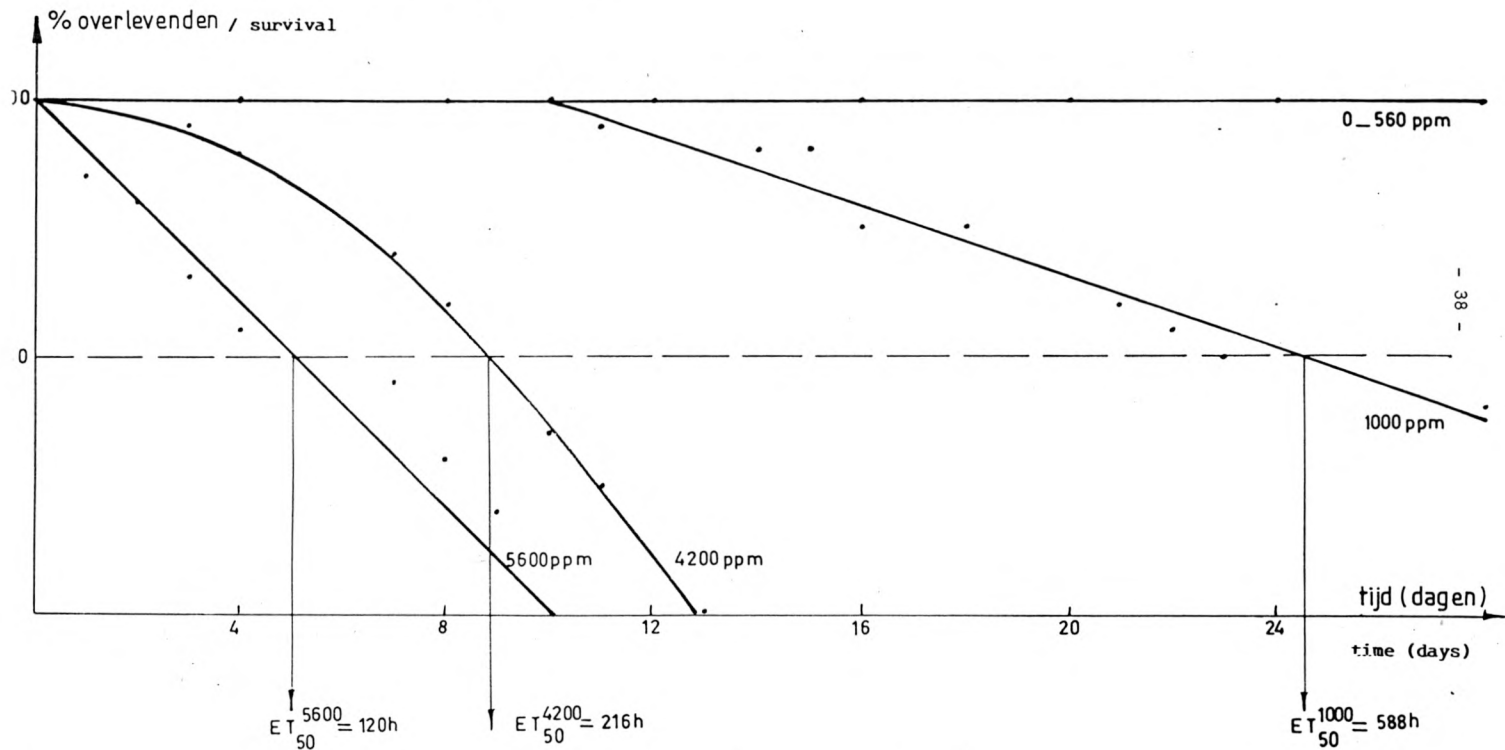


Fig. 8- Survival-time curves of a ET_{50} - 28 days test on Pleuronectes platessa L.
 (waste diluted in synthetic seawater).

Fig 9 - Mortaliteitsdistributiecurve voor Pleuronectes platessa L.
(afvalstof verdund in synthetisch zeewater)

Fig. 9 - Mortalitydistribution curve for Pleuronectes platessa L.
(waste diluted in sythetic seawater).

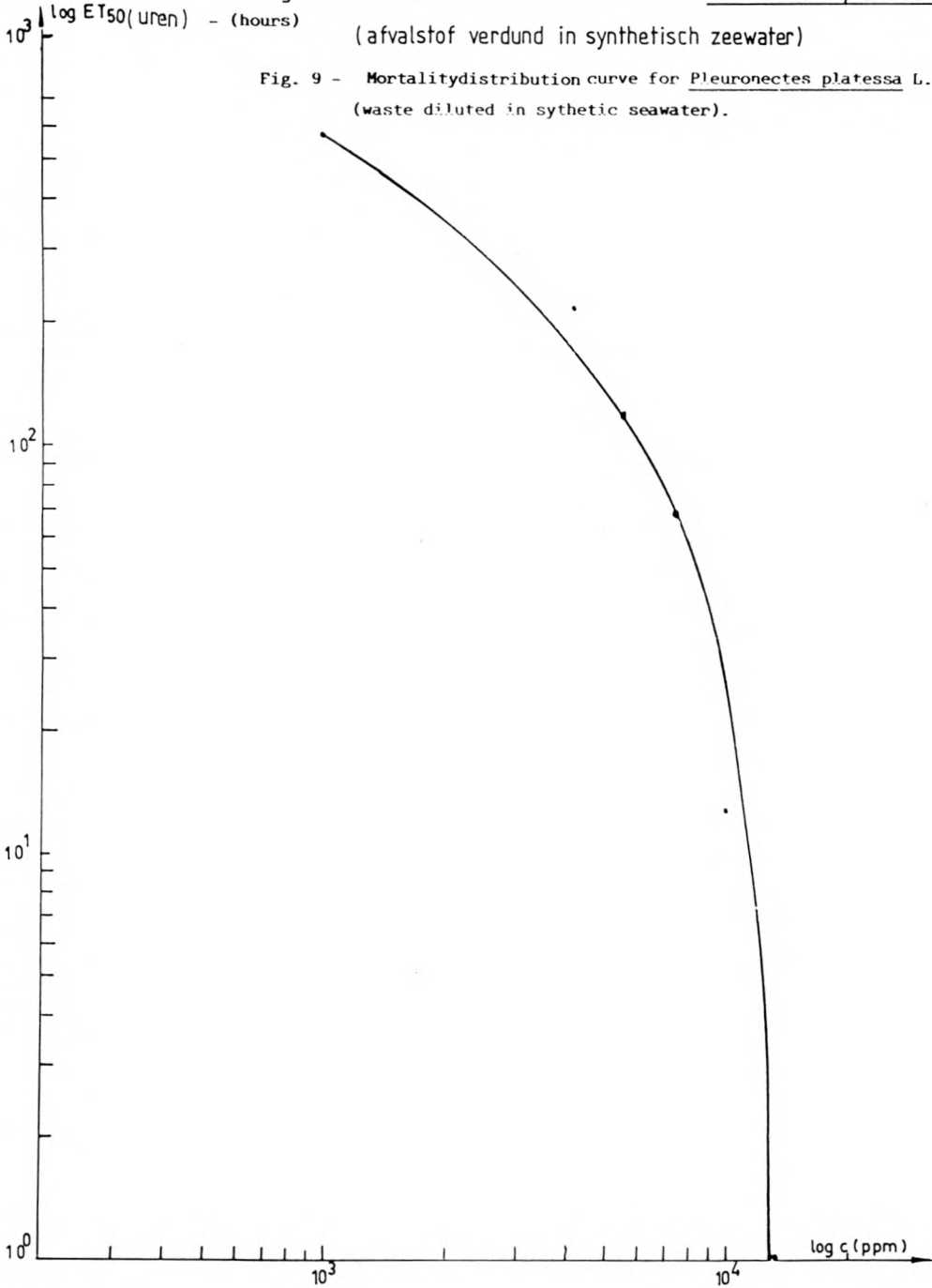


Fig.10 - Overlevings - concentratie curve van een LC₅₀-test op Pleuronectes platessa. L.
 (afvalstof verdund in synthetisch zeewater)

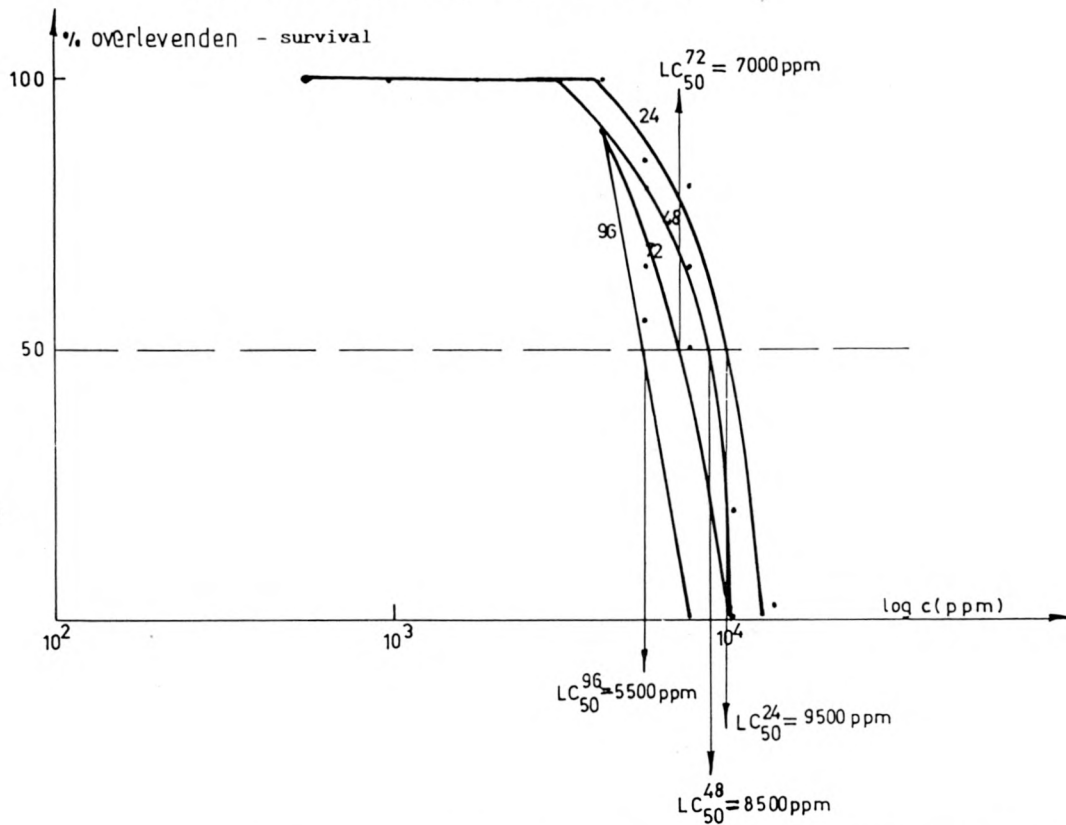


Fig.10 - Survival-concentration curves of a LC₅₀-test on Pleuronectes platessa L.
 (waste diluted in synthetic seawater).

Fig. 11 - Overlevings - tijd curve van een ET_{50} - 21 dagen test op Mytilus edulis L.
 (afvalstof verdund in synthetisch zeewater.)

Fig. 11 - Survival-time curves of a ET_{50} - 21 days test on Mytilus edulis L.
 (waste diluted in sythetic seawater).

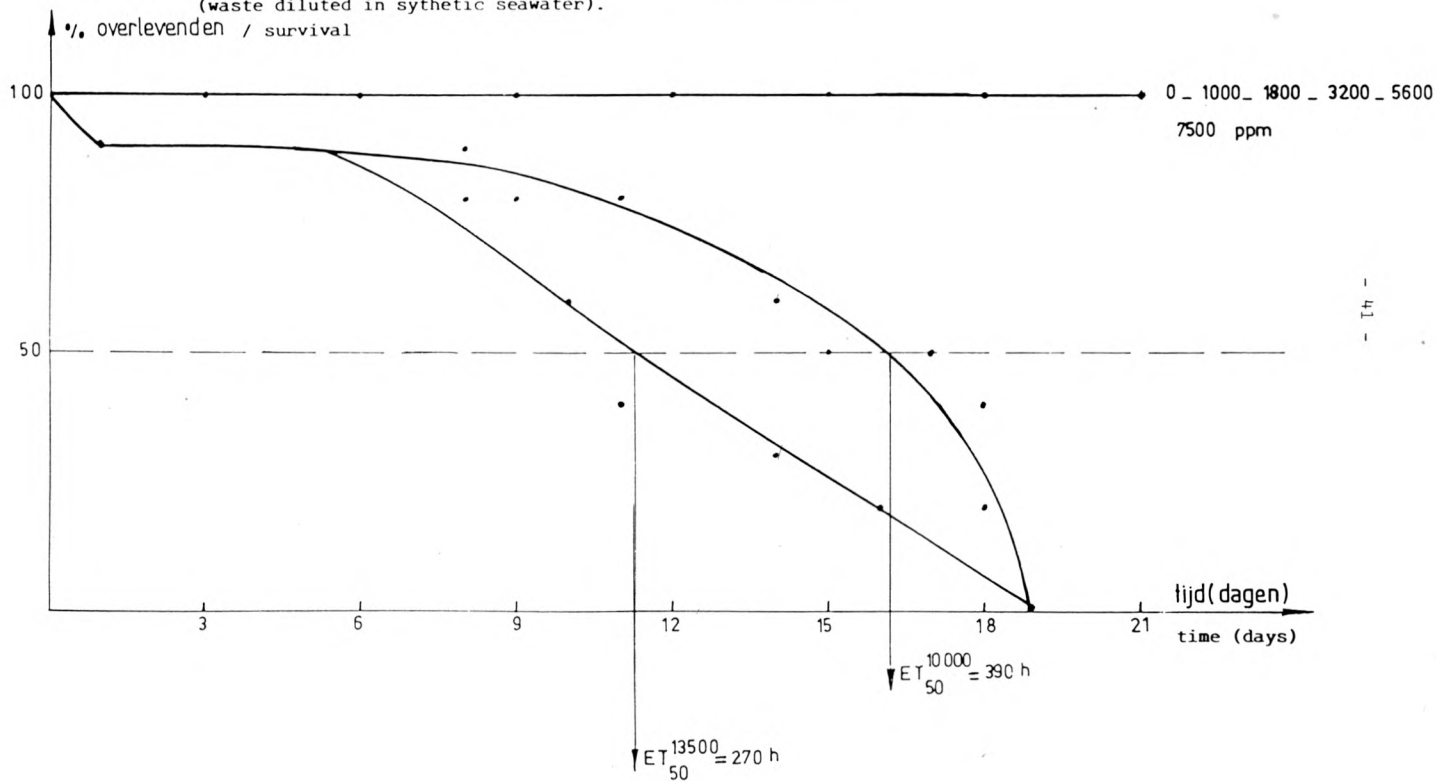


Fig. 12. Mortaliteitsdistributiecure voor Mytilus edulis L.
(afvalstof verdund in synthetisch zeewater)

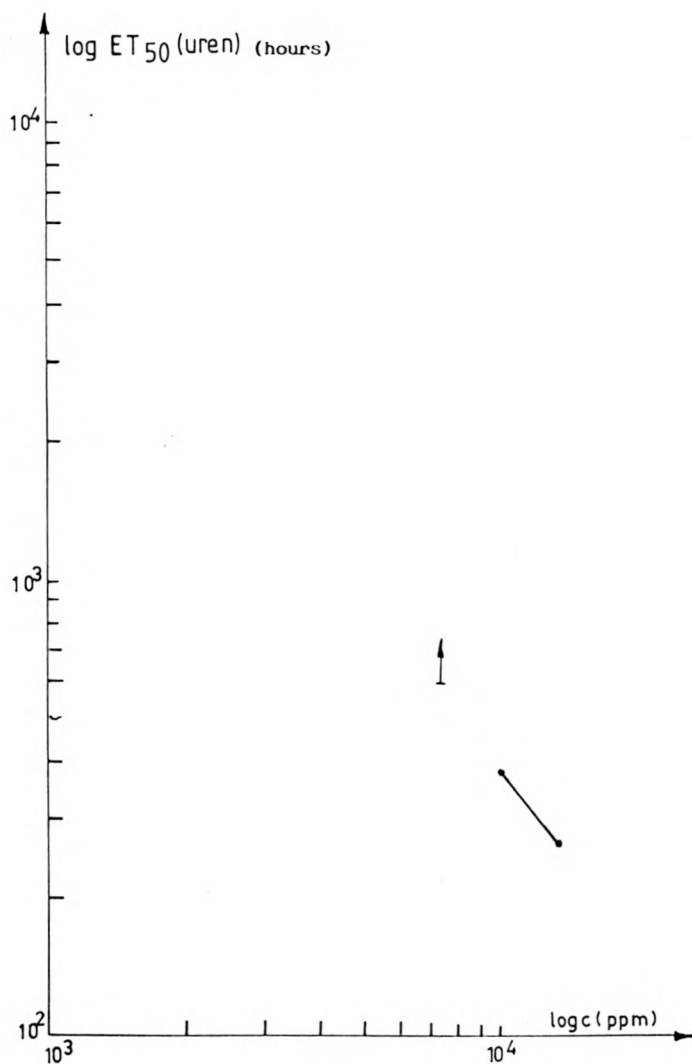


Fig. 12 - Mortality-distribution curve for Mytilus edulis L.
(waste diluted in synthetic seawater).

Fig. 13 - Overlevings - tijd curven van een ET_{50} - 16dagen test op Crangon crangon (L)
(anorganische fractie verdund in synthetisch zeewater)

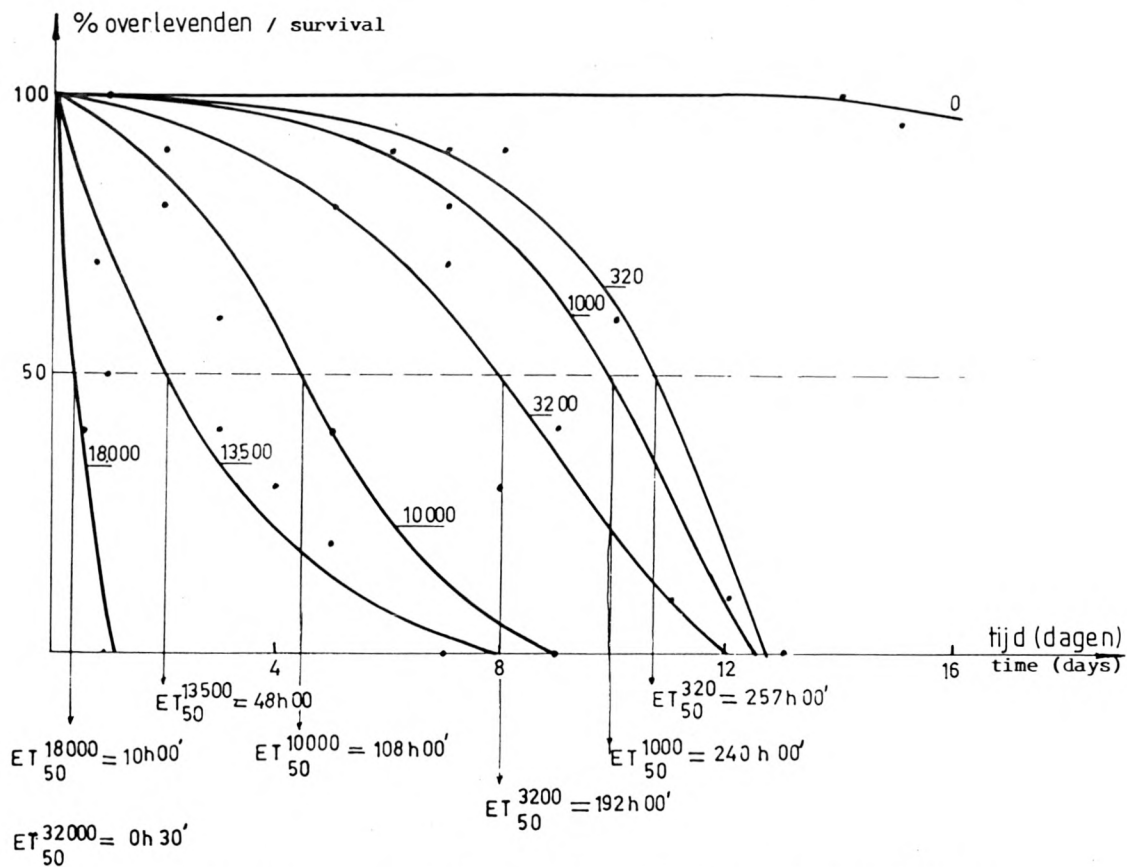


Fig. 13 - Survival-time curves of a ET_{50} -16 days test on Crangon crangon (L)
(inorganic fraction diluted in synthetic seawater).

Fig. 14 - Mortaliteitsdistributiecurve voor Crangon crangon(L)
(anorganische fractie verdund in zeewater.)

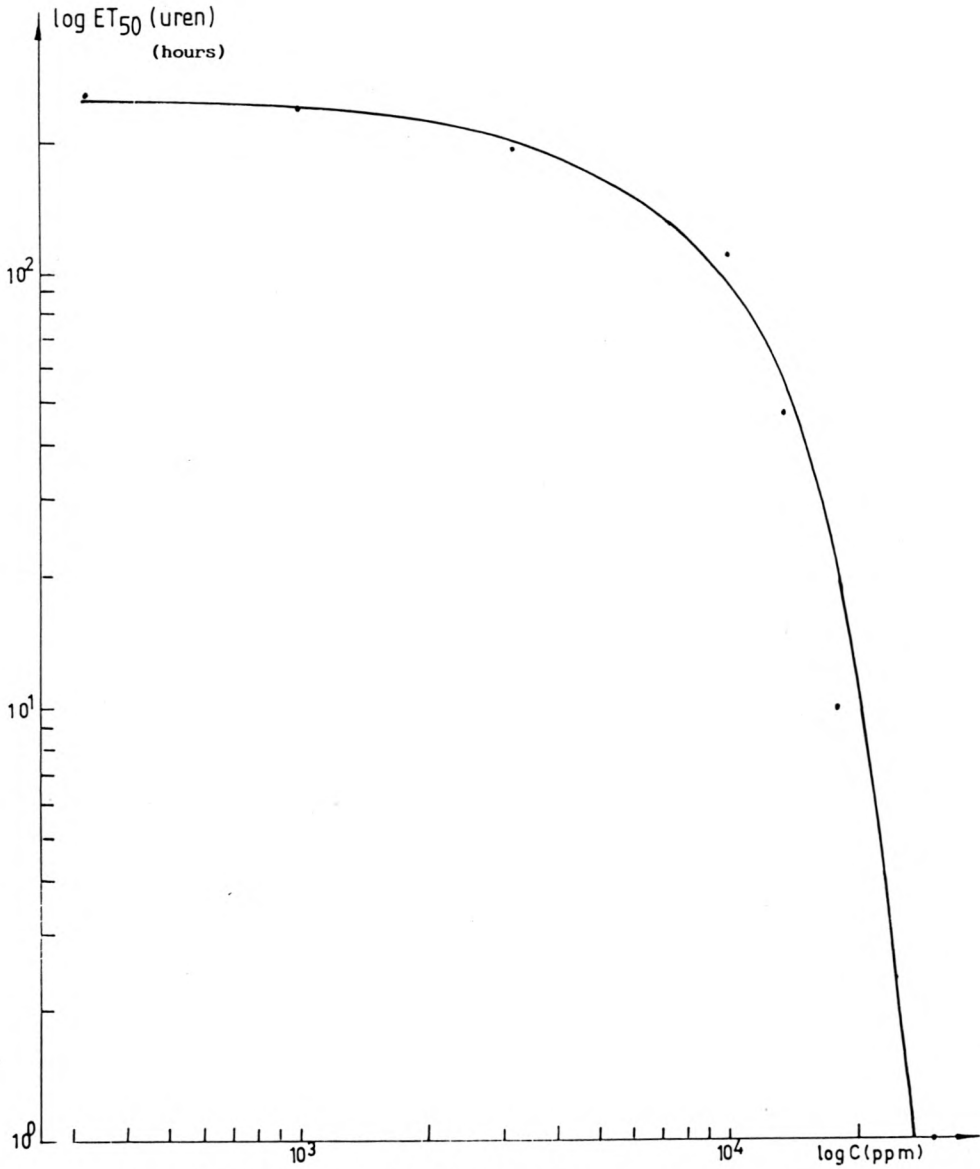


Fig. 14 - Mortality distribution curve for Crangon crangon (L)
(inorganic fraction diluted in synthetic seawater).

Fig. 15. - Overlevings_ tijd curven van een ET_{50} - 21 dagen test op Pleuronectes platessa L.
(anorganische fractie verdund in synthetisch zeewater)

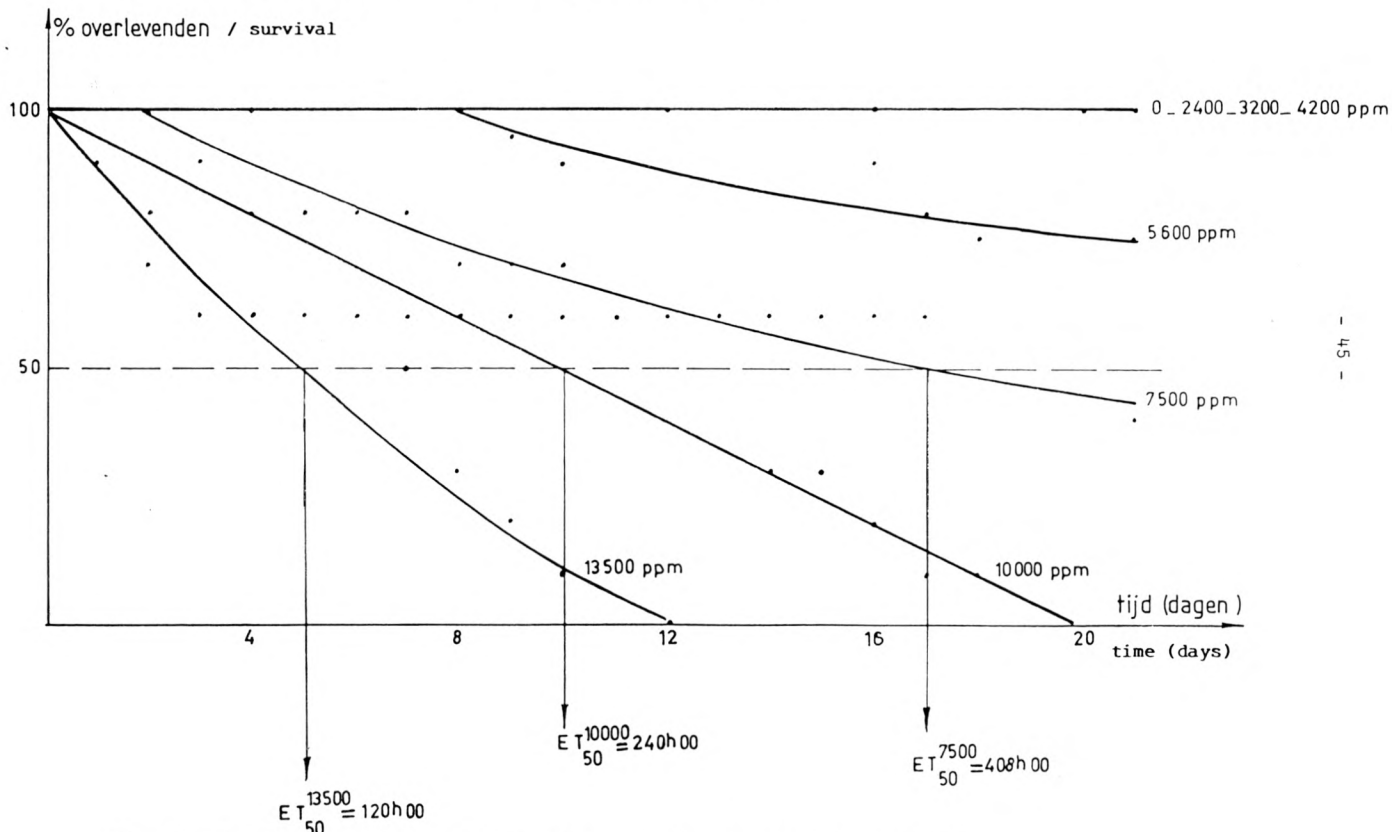


Fig. 15 - Survival-time curves of a ET_{50} -21 days test on Pleuronectes platessa L.
(inorganic fraction diluted in synthetic seawater).

Fig. 16 - Mortaliteitsdistributiecurve voor Pleuronectes platessa L.
(anorganische fractie verdund in synthetisch zeewater.)

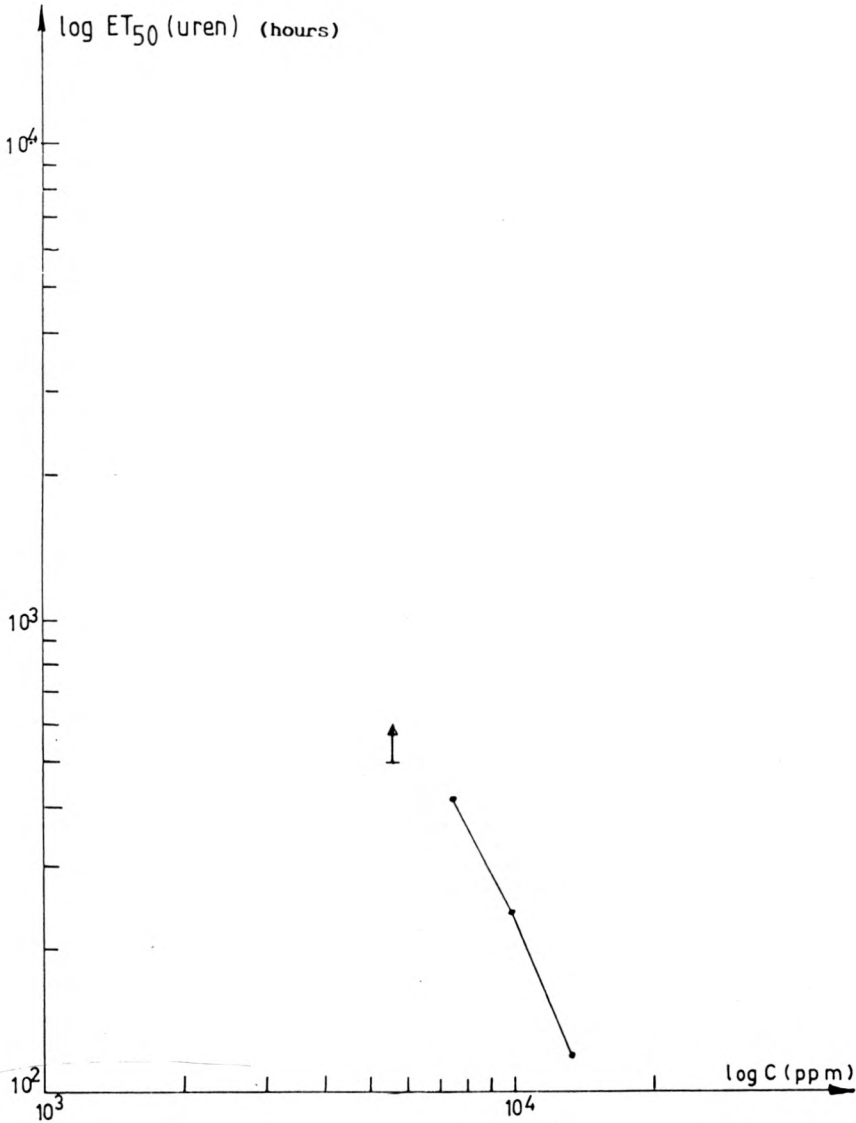
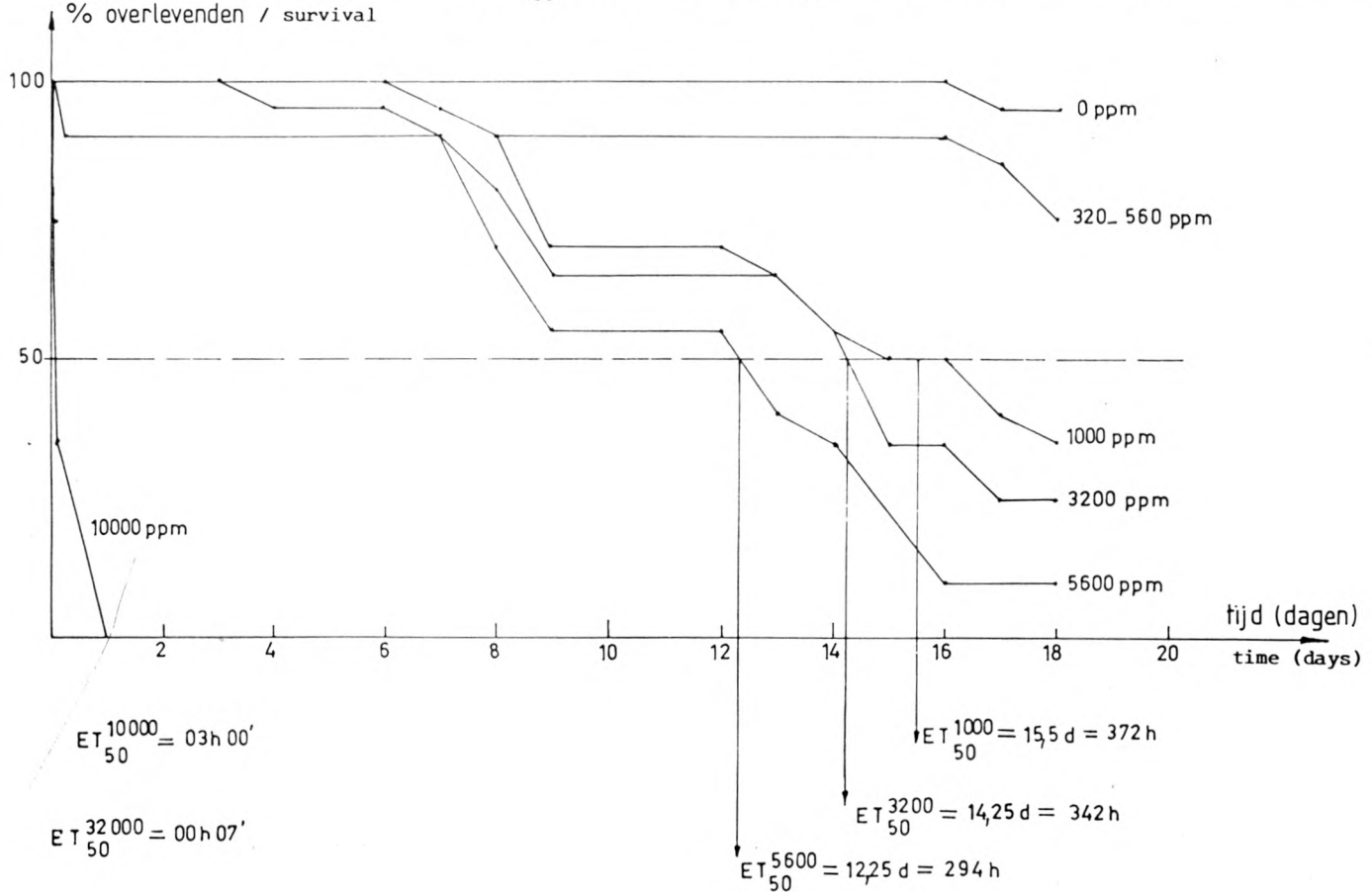


Fig. 16 - Mortality distribution curve for Pleuronectes platessa L.
(inorganic fraction diluted in synthetic seawater).

Fig. 17_ Overlevings_ tijd curven van een ET₅₀ — 18 dagen test op Crangon crangon (L)
 (afvalstof verdund in natuurlijk zeewater.)

Fig. 17. - Survival-time curves of a ET₅₀-18 days test on Crangon crangon (L). (waste diluted in natural seawater).



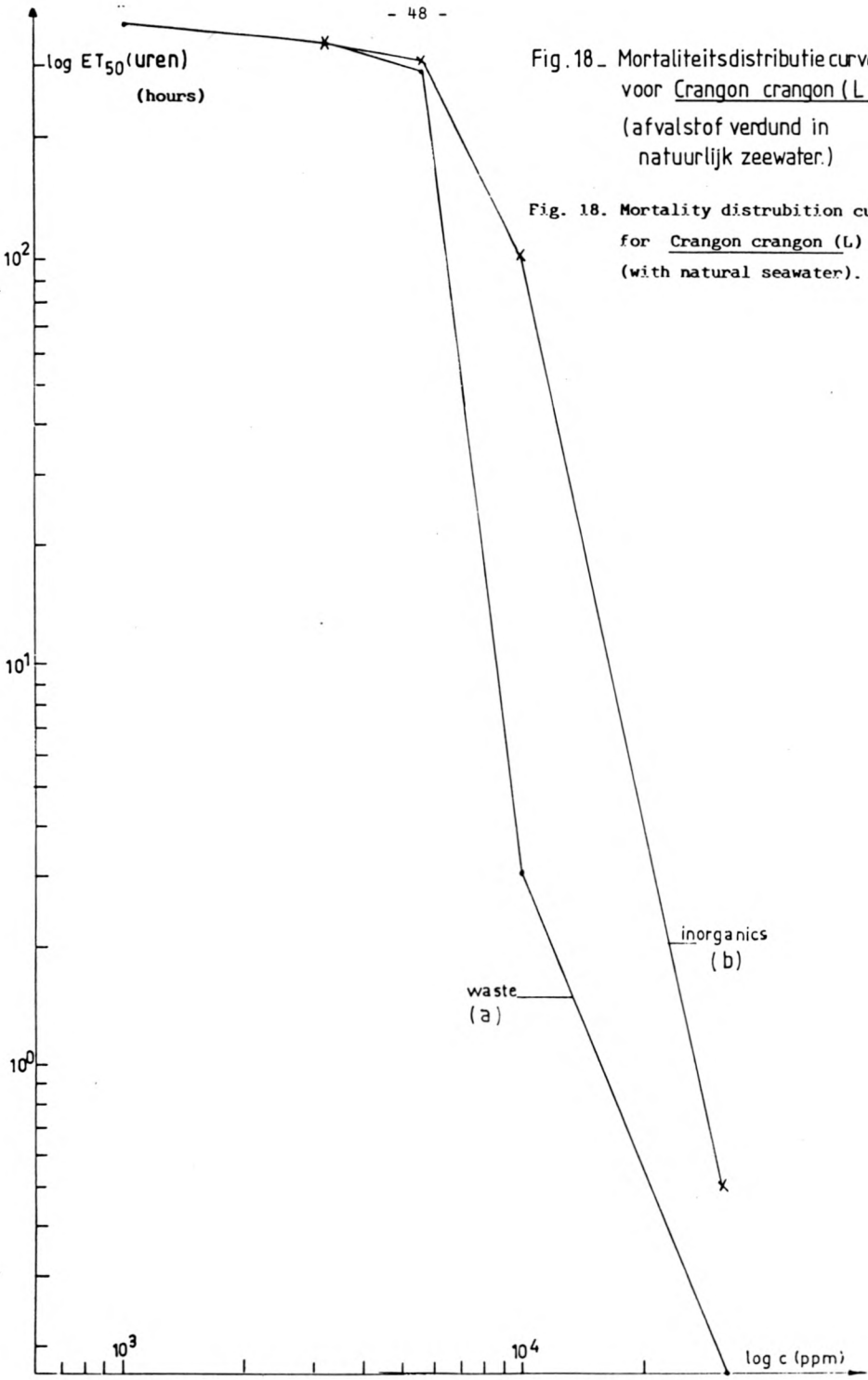


Fig. 18. Mortaliteitsdistributiecurven voor Crangon crangon (L) (afvalstof verdund in natuurlijk zeewater.)

Fig. 18. Mortality distribution curves for Crangon crangon (L) (with natural seawater).

Fig. 19 — Overlevings - concentratie - curven van een LC_{50}^{96} - test op Crangon crangon(L)
(afvalstof verdund in natuurlijk zeewater)

Fig. 19 - Survival-concentration curves of LC_{50}^{96} - test on Crangon crangon (L) in natural sawater.

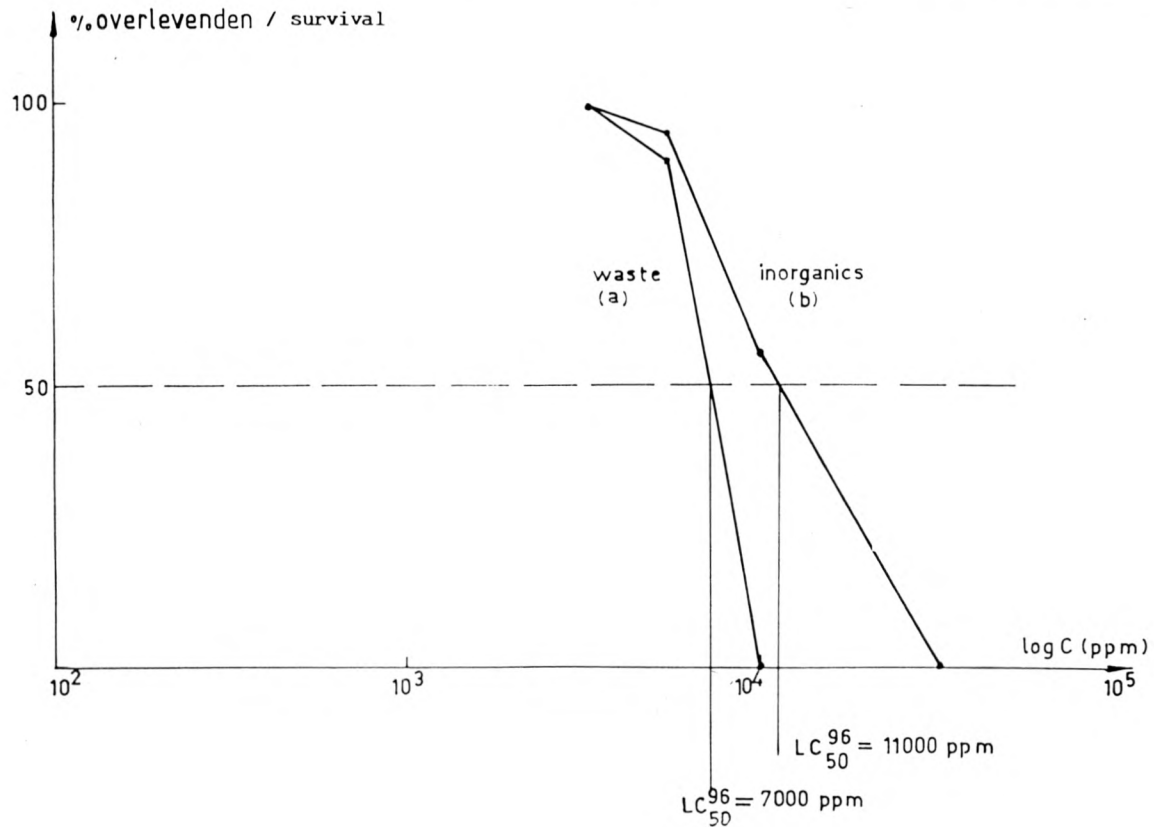


Fig. 20 - Overlevings-tijd-curven van een ET_{50} - 18 dagen test op Crangon crangon (L).
(anorganische fractie verdund in natuurlijk zeewater)

Fig. 20 - Survival-time curves of a ET_{50} - 18 days test on Crangon crangon (L)

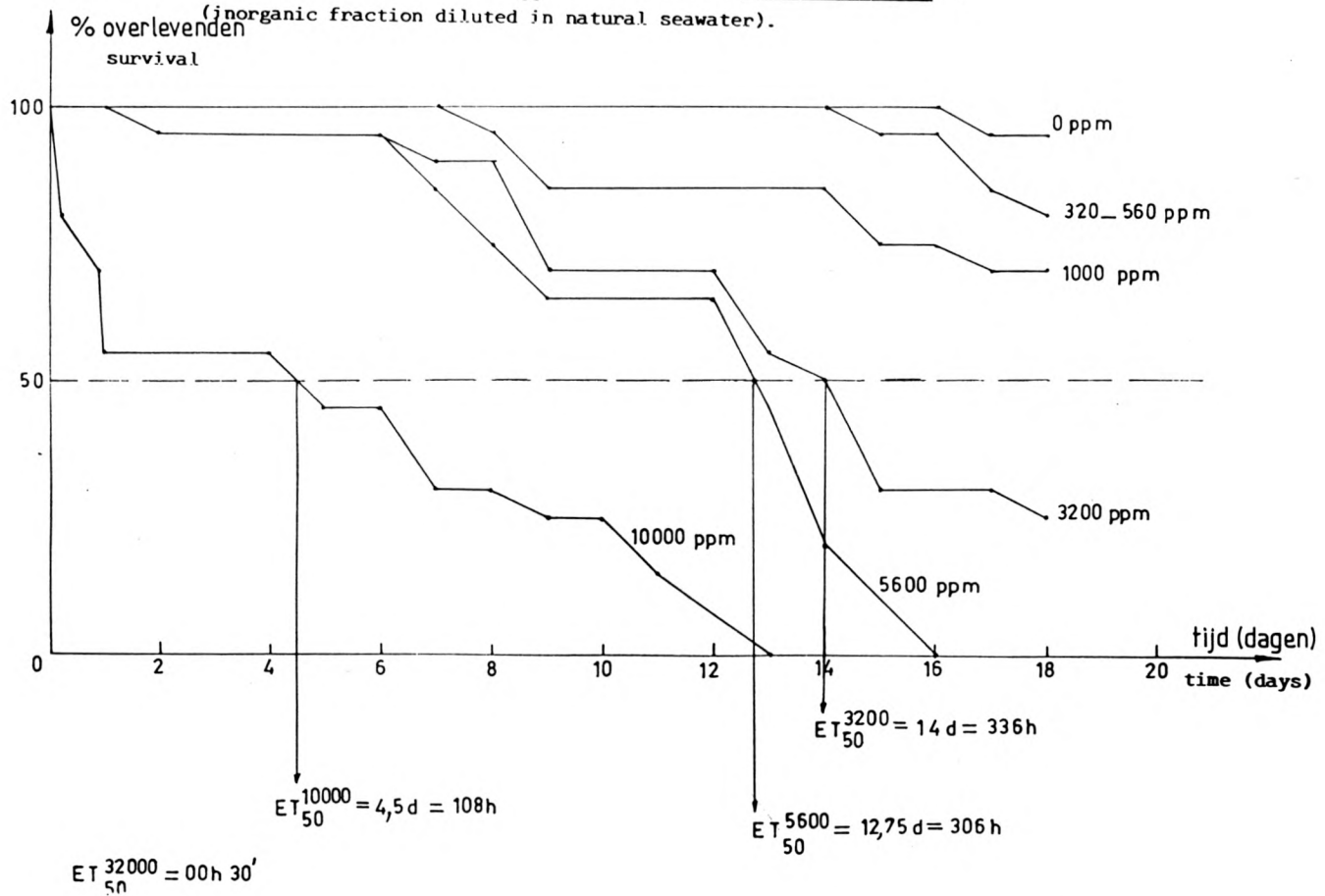
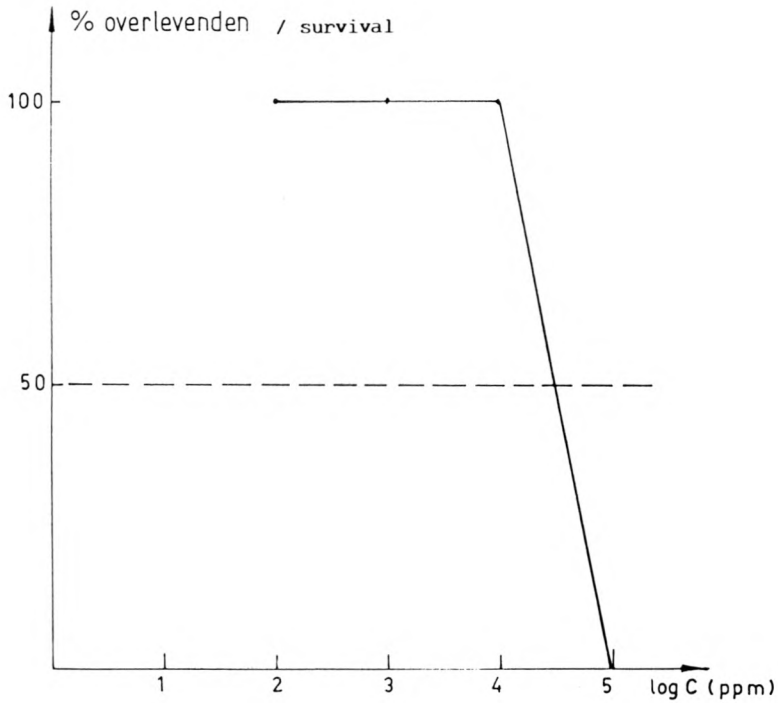


Fig. 21. - Overlevings - concentratie curve van een LC_{50}^{24} -test op Crangon crangon(L)
(afvalstof filtraat)



$$10.000 \text{ ppm} < LC_{50}^{24} < 100.000 \text{ ppm}$$

Fig. 21. - Survival concentration curve of a LC_{50}^{24} - test for Crangon crangon (L)
(waste filtrate).

Fig. 22 - Overlevings - tijd curven van een ET₅₀-96 uren test op Crangon crangon(L)
(afvalstof filtraat)

Fig. 22 - Survival-time curves of a ET₅₀-96 hours test on Crangon crangon (L) (waste filtrate).

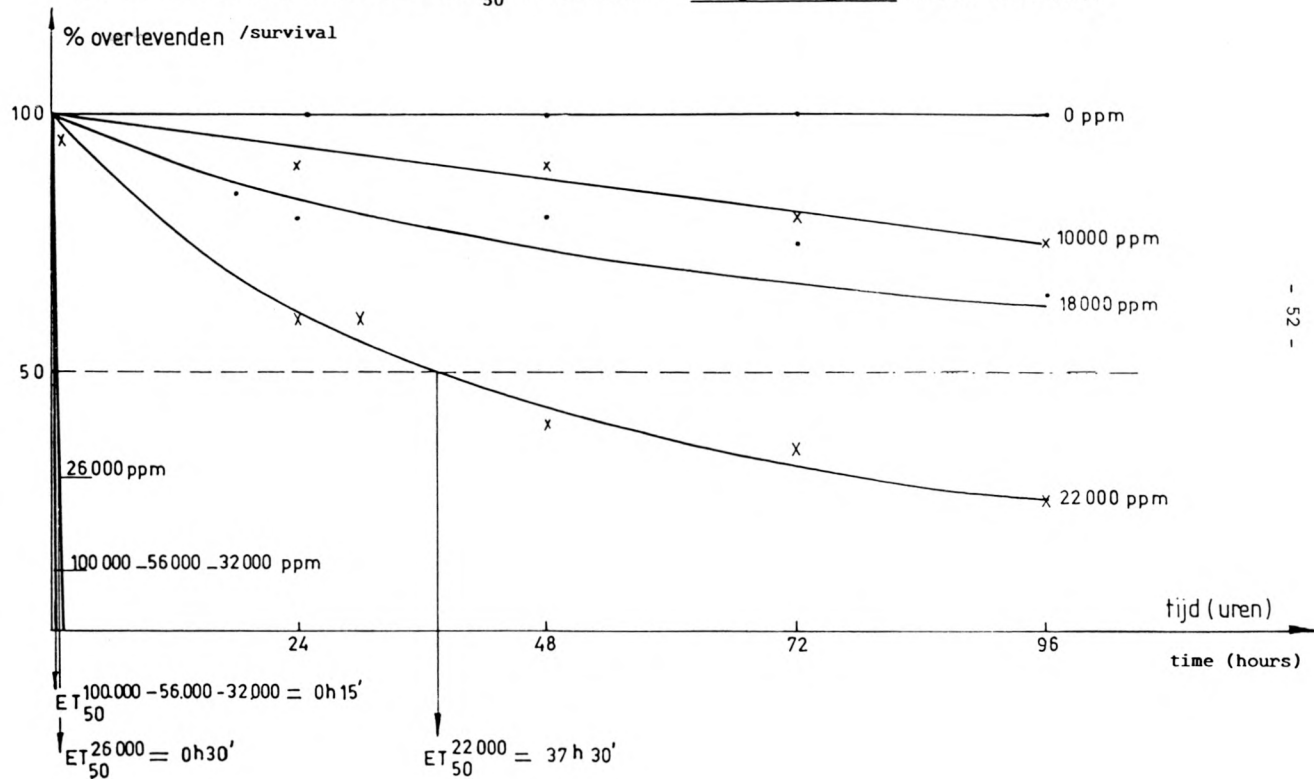


Fig. 23 - Overlevings-tijd curven van een ET_{50} - 10 dagen test op Crangon crangon (L).
(afvalstoffiltraat)

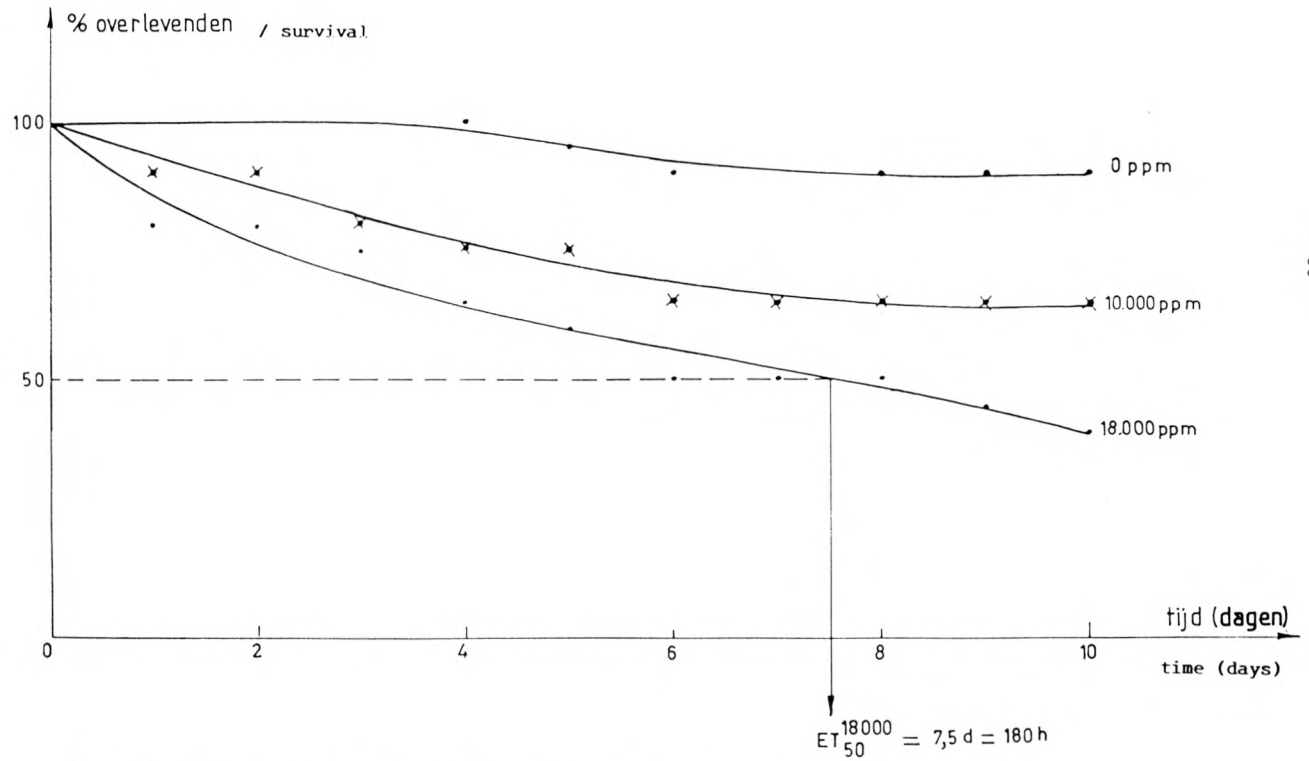


Fig. 23 - Survival-time curves of a ET_{50} - 10 days test on Crangon crangon (L) (waste filtrate).

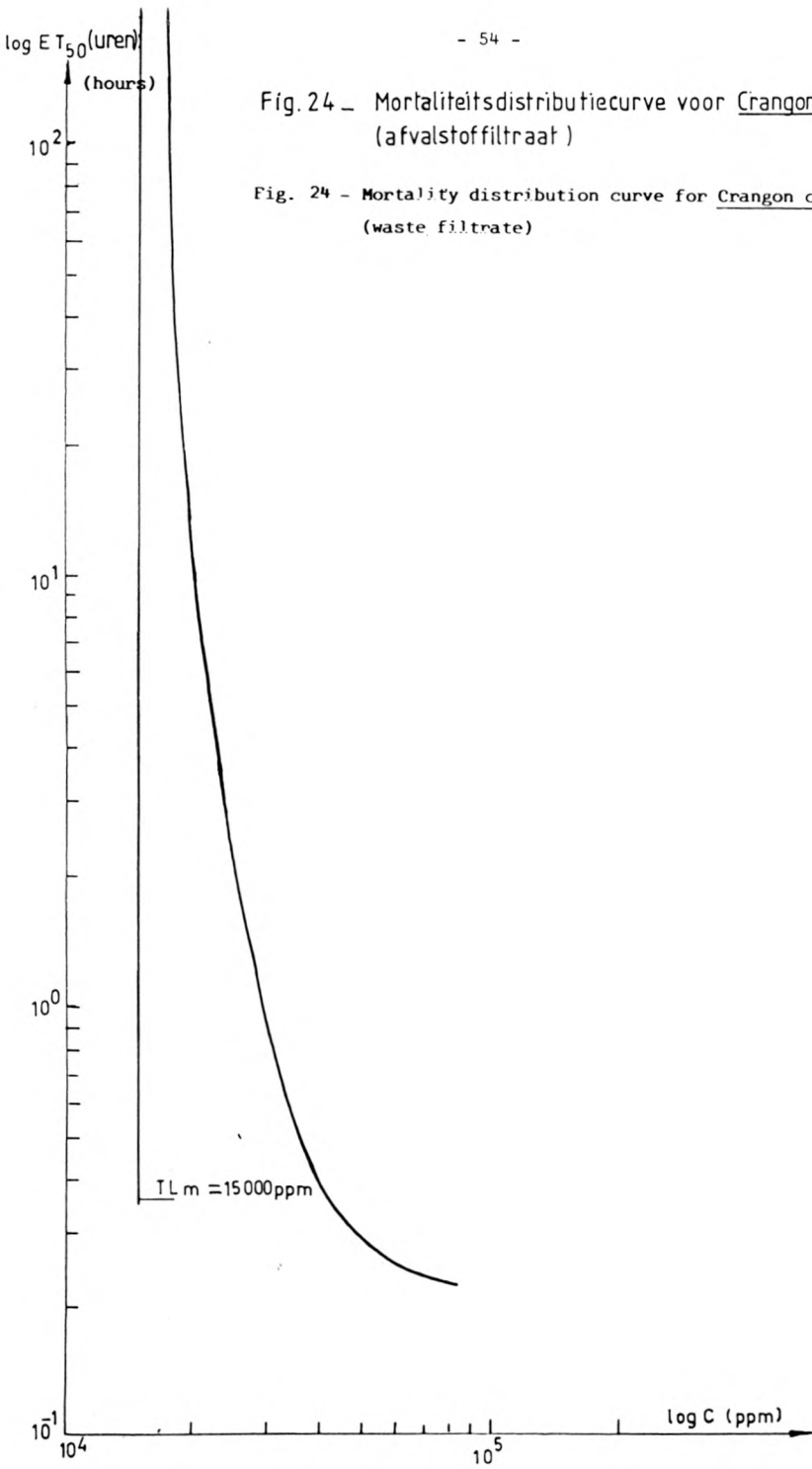


Fig. 24 - Mortaliteitsdistributiecure voor Crangon crangon (L)
(afvalstoffiltraat)

Fig. 24 - Mortality distribution curve for Crangon crangon (L)
(waste filtrate)

Fig. 25 — Overlevings_ concentratie curve van een LC_{50}^{96} - test op Crangon crangon(L) (afvalstof filtraat)

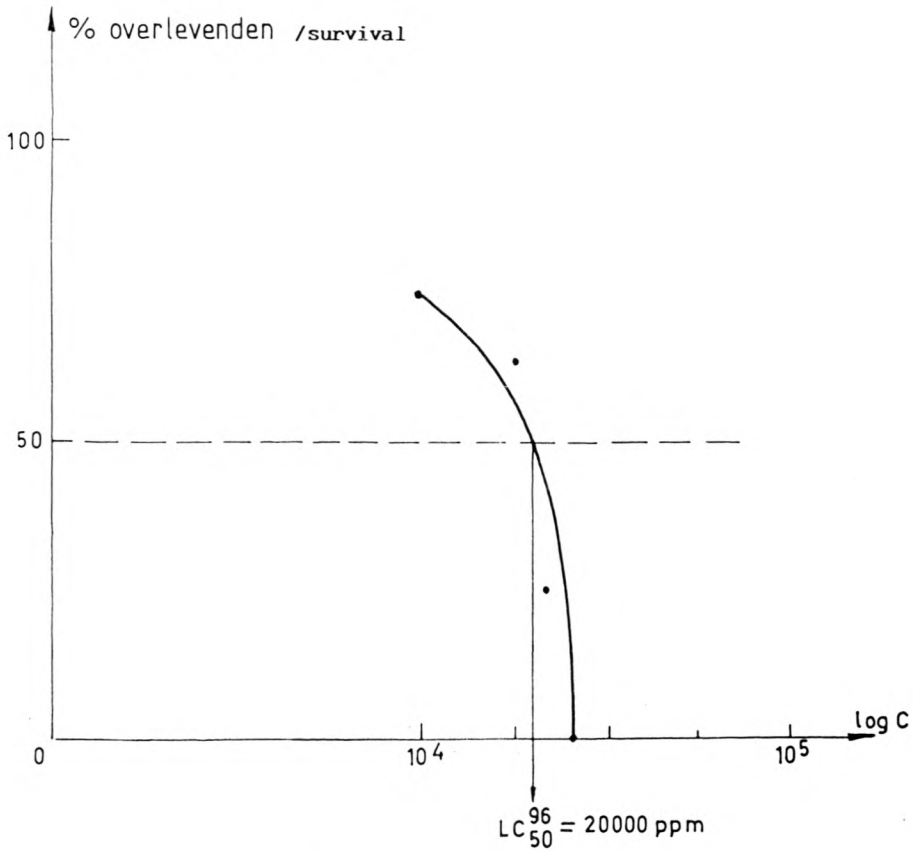


Fig. 25 - Survival-concentration curve of a LC_{50}^{96} - test on Crangon crangon (L) (waste filtrate).

REFERENTIES

1. Gesamp-Report (1973-IV/b) : Bio-assays and other techniques for evaluation of lethal and sub-lethal effects of pollutants on marine organisms.
2. Portmann, J.E. (1968) : Helgolander wiss. Meeresunters. 17, 247-256 (1968)
3. Sprague, J.B. (1969) : Water Research Pergamon Press 1969, vol. 3, pp. 793-821.
4. Sprague, J.B. (1970) : Water Research Pergamon Press 1970, vol. 4, pp. 3-32.
5. Wilson, K.W. (1972) : ICES - Fisheries Improvement Committee - C.M. 1972/E:15.
6. Wilson, K.W. ; Cornor, P.M. en Neale, P. (1974) : Oslo Convention - Preparatory Committee Report.
7. The determination of the possible effects of chemicals and wastes on the aquatic environment. Degradability, Ecotoxicity and Bio-accumulation (TNO, Delft, The Netherlands, 1977).
8. Caspers, H. (1975) : Pollution in Coastal Waters - DFG - D53 Bonn-Bad Godesberg 1, Kennedyallee 40.
9. Burrows, W.D. : Aquatic aluminum : chemistry, toxicology and environmental prevalence - Crit. Rev. Environ. Control, 7(2), 167-216 (1977).
10. Freeman, R.A. ; Everhart, W.H. : Toxicity of aluminum hydroxide complexes in neutral and basic media to rainbow trout - Trans. Am. Fish. Soc. 100, 644, 1971.
11. E.P.A. (1973) W.Q.C. (1972) - Marine Aquatic Life and Wildlife, Section IV, 242.
12. Dethlefsen, V. ; Rosenthal, H. : Problems with dumping of red mud in shallow waters - Aquaculture, 2, 267, 1973.
13. Blackman, R.A.A., Wilson, K.W. : Effects of red mud on marine animals. Mar. Pollut. Bull., 4, 169, 1973.
14. Vandelanootte, R. ; Van't dack, L. ; Van Grieken, R. : Effects of alkaline aluminate waste dumping on seawater chemistry. Environmental Pollution (series B) submitted 1986.

Instituut voor Zeewetenschappelijk onderzoek
Institute for Marine Scientific Research

Prinses Elisabethlaan 69

8401 Bredene - Belgium - Tel. 059 / 80 37 15

Instituut voor Zeewetenschappelijk onderzoek
Institute for Marine Scientific Research

Prinses Elisabethlaan 69

8401 Bredene - Belgium - Tel. 059 / 80 37 15

