



Acute toxiciteitstesten: zinnig voor inzicht in milieubezwaarlijkheid van afvalwater

CORINE BALTUS, RIZA

PAUL DE GRAAF, RIJKSWATERSTAAT DIRECTIE NOORD-NEDERLAND

MICHELLE TALSMA, STOWA

MARCEL TONKES, RIZA

Acute toxiciteit is één van de binnen totaal-effluentbeoordeling gebruikte parameters. Rijkswaterstaat en de waterschappen voerden in de afgelopen jaren een aantal onderzoeken uit om inzicht te krijgen in de toepasbaarheid van acute toxiciteitstesten bij de beoordeling van afvalwaterlozingen. Door het uitvoeren van meer dan 400 toxiciteitsmetingen is veel praktijkkennis verkregen en is veel ervaring opgedaan met de methode. De belangrijkste les is dat onderzoek naar acute toxiciteit van afvalwater een duidelijke toegevoegde waarde heeft boven de klassieke op chemie gebaseerde stoffen-aanpak. Het is niet voor niets een belangrijke parameter binnen totaal-effluentbeoordeling.

Voordat implementatie van totaal-effluentbeoordeling (TEB) in het waterkwaliteitsbeleid plaatsvindt, is het belangrijk dat ervaring wordt opgedaan met de methode. Vanaf de tweede helft van de jaren negentig is daarom een aantal praktijkonderzoeken naar de acute toxiciteit van effluënten uitgevoerd. Bij het opzetten en uitvoeren van acuut toxiciteitsonderzoek komen veel vragen op. In welke situaties is het toepassen van toxiciteitstesten zinvol? Welke testen moet je in welke situatie toepassen? Maar ook, hoe moet je de resultaten van het toxiciteitsonderzoek interpreteren? In 1997 is een handreiking opgesteld met daarin praktische aanwijzingen voor de uitvoering van acuut toxiciteitsonderzoek en de interpretatie van testresultaten. Na het opstellen van de handreiking is een praktijkonderzoek gestart door de regionale directies van Rijkswaterstaat en door de regionale waterkwaliteitsbeheerders (waterschappen) in samenwerking met de STOWA, om de handreiking te toetsen op bruikbaarheid in de praktijk en om verdere ervaring met de methode op te doen. In dit artikel wordt een overzicht gegeven van de resultaten van beide onderzoeken en wordt nader ingegaan op de bruikbaarheid van de methode.

Wat is toxiciteit?

Bij toxiciteitsonderzoek wordt gekeken naar effecten van giftige stoffen op organismen. Daarbij wordt onderscheid gemaakt tussen acute en chronische toxiciteit. Chronische toxiciteit treedt op wanneer organismen over een langere periode worden blootgesteld aan giftige stoffen. Acute toxiciteit treedt vooral op bij een kortere blootstellingsduur en hogere concentraties. Beide vormen van toxiciteit maken onderdeel uit van de TEB-methode. In dit artikel zal alleen aandacht worden besteed aan acute toxiciteit.

Bij acuut toxische effecten wordt vaak gedacht aan sterfte van organismen. Duidelijke voorbeelden van massale sterfte van waterorganismen door lozing van grote hoeveelheden giftige stoffen zijn rampen als die in de Rijn bij Sandoz en meer recent die in de rivier de Tisza in Hongarije. Aanwezigheid van giftige stoffen leidt echter niet altijd direct tot sterfte van organismen. Voorafgaande aan sterfte kunnen bijvoorbeeld effecten als groeiremming of het immobiel worden van organismen optreden. Deze effecten kunnen uiteindelijk wel leiden tot sterfte. Met onderzoek naar de acute toxiciteit wordt geprobeerd inzicht te krijgen of een lozing van afvalwater

sterfte of andere effecten op de organismen in het oppervlaktewater veroorzaakt.

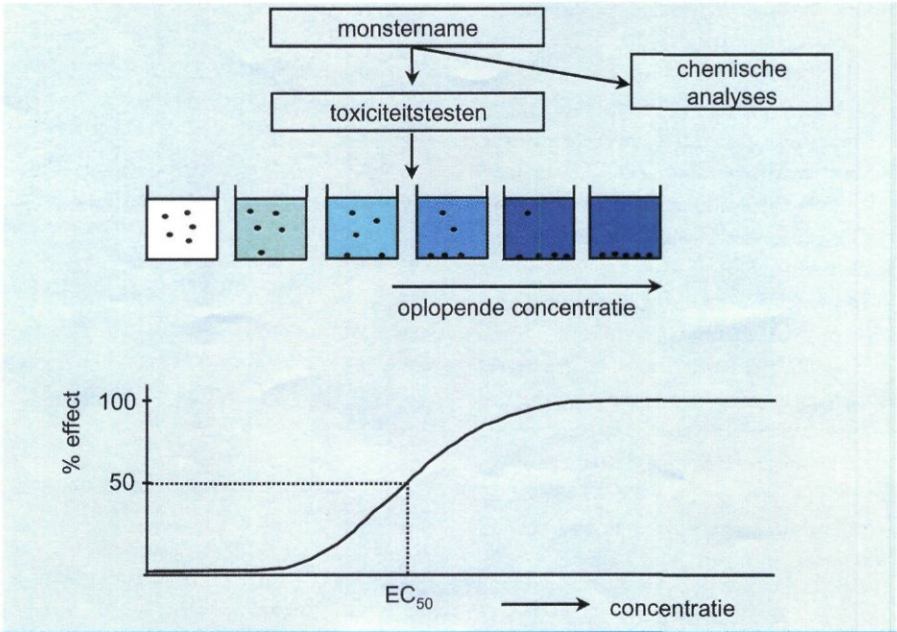
Toxiteitsmetingen
Welke organismen?

Om de acute toxiciteit te bepalen worden bacteriën, algen, kreeftachtigen en vissen gebruikt. Deze organismen komen uit verschillende niveaus in de voedselketen. Hier-voor is gekozen om een zo breed mogelijk beeld te krijgen van eventuele effecten in het milieu.

De mate waarin organismen effecten vertonen wordt sterk bepaald door de eigen-schappen van de in het afvalwater aanwezige stoffen. De gevoeligheid van organismen voor een bepaalde stof kan sterk van elkaar verschil-len. Zo zal een bacterie bijvoorbeeld veel ster-ker reageren op een bactericide dan algen of kreeftachtigen. Omdat van te voren meestal niet bekend is welke stoffen precies in het afvalwater zitten, is het niet mogelijk om te bepalen welk organisme het meest geschikt is om de toxiciteitstest mee uit te voeren. Lozin-gen worden daarom in eerste instantie onder-zocht met zowel bacteriën, algen, kreeftachtigen als vissen. Afhankelijk van het zoutgehalte van de te onderzoeken lozing wordt gekozen voor een zoetwater- of een zoutwaterorga-nisme.

Wat ga je meten?

Met een toxiciteitstest wordt meestal een LC_{50} of EC_{50} of EC_{20} -waarde bepaald. De LC_{50} is de concentratie waarbij 50 procent van de organismen na een bepaalde blootstellings-duur sterft. Daarbij staat de L voor letaal en de C voor Concentratie. Bij de EC_{20} of EC_{50} wordt niet naar sterfte gekeken, maar naar andere effecten als remming van lichtuitzending, groeiremming of het immobiel worden van het organisme.



Afb. 1: Hoe wordt toxiciteit gemeten?

Hoe wordt de LC_{50} of EC_{50} bepaald? Met het afvalwater wordt een verdunningsreeks gemaakt (zie afbeelding 1). In iedere verdun-ning wordt een vast aantal organismen gedaan. Na een bepaalde tijd (varieert van 30 minuten tot 96 uur) wordt in elke verdun-ning gekeken hoeveel organismen een effect vertonen. Vervolgens worden de resultaten hiervan in een grafiek gezet; de concentratie wordt uitgezet tegen het percentage orga-nismen waarbij een effect is waargenomen. Hier-uit wordt bepaald bij welke concentratie 50 procent van de organismen een effect heeft vertoond. Dit noemen we de LC_{50} of EC_{50} .

Opzet praktijkonderzoek
Onderzochte lozingen

In totaal zijn 84 lozingen onderzocht op acute toxiciteit. Deze zijn te verdelen in vier

groepen: industriële lozingen, lozingen afkomstig uit de landbouwsector, effluënten van rioolwaterzuiveringsinstallaties (rwzi's) en een groep overige. In tegenstelling tot Rijkswaterstaat hebben de regionale water-kwaliteitsbeheerders ook vaak te maken met indirecte lozingen, dat wil zeggen dat lozing op oppervlaktewater plaatsvindt via een rwzi of een afvalwaterzuiveringsinstallatie. Van de onderzochte lozingen werden er tien indirect geloosd.

Onderzochte industriële lozingen zijn afkomstig van bedrijfstakken als chemie, metaalverwerking, papier, voedsel en tank-cleaning. Lozingen uit de landbouwsector zijn bijvoorbeeld bloembolspoelerijen, champig-nonkwekerijen, drainagewater uit een tuin-bouwgebied en afvalwater afkomstig van een tuinafvalverwerker. De groep overige bestond onder andere uit afstromend wegwater en afvalwater uit een baggerdepot.

Alle lozingen zijn in eerste instantie onderzocht met zowel bacteriën, algen, kreeft-achtigen als vissen. De testen zijn allemaal uitgevoerd volgens internationaal gestandaar-diseerde richtlijnen. In een aantal gevallen wilde men na het eerste toxiciteitsonderzoek verder inzicht krijgen in de variatie in toxiciteit in de loop van de tijd. Het is meestal niet nodig om dit vervolgonderzoek ook met de vier verschillende organismen uit te voeren. Vervolgonderzoek wordt in principe uitge-voerd met één soort organisme. De keuze voor dat ene organisme wordt gebaseerd op de resultaten van het eerste inventariserende onderzoek. Hierbij wordt gekeken bij welk organisme in het eerste onderzoek het groot-ste effect werd gevonden. De toxiciteitstesten

Het resultaat van de toxiciteitstest, de LC_{50} , EC_{20} of EC_{50} , wordt weergegeven in volumeper-centage effluent. Een resultaat met een hoog percentage geeft een gering effect aan, want in dat geval is sprake van een geringe verdunning. 100 vol.% komt overeen met onverdund effluent. 10 vol.% wil zeggen dat het monster tien keer is verdund. Dus hoe lager de waarde, hoe sterker de toxiciteit.

De resultaten van de toxiciteitstesten kunnen worden ingedeeld met behulp van de onder-staande classificatie. Meestal wordt een lozing onderzocht met verschillende soorten orga-nismen. Voor de classificatie wordt uitgegaan van het resultaat van het organisme dat het sterk-ste effect heeft vertoond. Dat wil zeggen het resultaat met het laagste volumepercentage.

testresultaat	verdunning	toxiciteitsklasse
minder dan 1 vol.%	minimaal 1:100 (meer dan 100 maal)	zeer sterk acuut toxisch
1-10 vol.%	1:10 tot 1:100 (10-100 maal)	sterk acuut toxisch
10-50 vol.%	1:2 tot 1:10 (1-10 maal)	matig acuut toxisch
50-100 vol.%	1:2 tot onverdund (1-0 maal)	weinig acuut toxisch
meer dan 100 vol.%	onverdund	niet acuut toxisch

zijn uitgevoerd door verschillende laboratoria met ecotoxicologische expertise.

Chemische analyses

De meeste monsters zijn ook chemisch geanalyseerd. Dit werd gedaan om de in de testen gemeten toxiciteit te kunnen vergelijken met de te verwachten toxiciteit. Deze wordt berekend aan de hand van concentraties van de in het afvalwater geanalyseerde stoffen en de gegevens over hun toxiciteit.

Het analysepakket bestond onder andere uit CZV, PAK's, PCB's en organochloor-bestrijdingsmiddelen. Het pakket is zo nodig aangevuld met specifieke stoffen, waarvan bekend is dat ze in het afvalwater van het betreffende bedrijf voorkwamen.

Resultaten

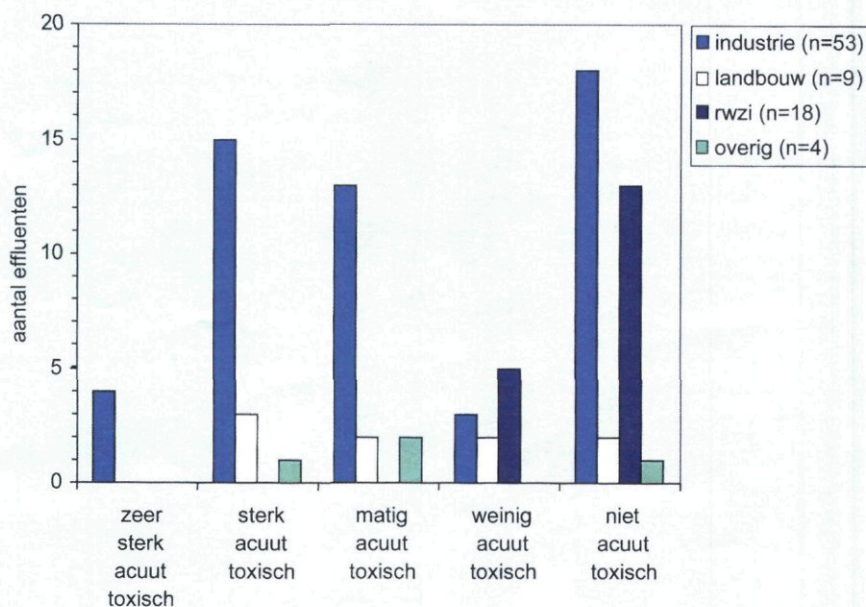
In totaal zijn meer dan 400 acute toxiciteitstesten uitgevoerd. In eenderde deel van de gevallen werd in meer of mindere mate acute toxiciteit geconstateerd. Bij de overige tweederde van de testen werd dus geen toxiciteit gemeten.

De lozingen zijn op grond van de resultaten van het toxiciteitsonderzoek ingedeeld in vijf verschillende toxiciteitsklassen, variërend van zeer sterk toxisch tot niet acuut toxisch (zie afbeelding 2). In het kader wordt toegelicht hoe de classificatie tot stand is gekomen. Uit afbeelding 2 blijkt dat de industriële lozingen over het algemeen het meest toxisch waren. Ook bij de landbouwlozingen werd in een aantal gevallen sterke acute toxiciteit geconstateerd. Om een uitspraak te doen over de schadelijkheid van een lozing voor het oppervlaktewater zal ook de lozingssituatie in ogenschouw moeten worden genomen. Van de industriële lozingen die zeer sterk tot sterk acuut toxisch waren, werd tweederde rechtstreeks op oppervlaktewater geloosd. Van de lozingen uit de landbouwsector bleek een aantal sterk acuut toxische lozingen ook direct op oppervlaktewater te worden geloosd. De effluënten van rwzi's (rechtstreekse lozingen) bleken niet of nauwelijks toxisch.

Uit het vervolgonderzoek kwam naar voren dat in de helft van de gevallen de classificatie van de lozing anders was dan in het eerste onderzoek. In veel gevallen was dit niet onverwacht, omdat bekend was dat samenstelling van veel van deze lozingen niet constant blijft. Het geeft echter wel aan dat de monsterstrategie (onder andere type monster en tijdstip van bemonstering) heel belangrijk is.

Totaal-effluentbeoordeling versus stoffenaanpak

Bij lozingen waar acute toxiciteit werd gemeten is een vergelijking gemaakt tussen de



Afb. 2: Resultaten van de toxiciteitstesten van zowel de directe als indirecte lozingen. De resultaten zijn ingedeeld in vijf verschillende toxiciteitsklassen: zeer sterk, sterk, matig, weinig en niet acuut toxisch.

toxiciteit die in de testen werd gemeten en de toxiciteit die verwacht werd op basis van concentraties van de in het afvalwater aanwezige bekende stoffen en hun toxiciteitsgegevens. Eigenlijk is het een soort vergelijking tussen wat met de TEB-methode wordt gemeten en wat er uit de stofgerichte aanpak aan milieubezwaarlijkheid naar voren komt.

In veel gevallen werd in de testen een sterkere toxiciteit gemeten dan werd verwacht op basis van de gegevens van de in het afvalwater signaleerde stoffen. Het verschil wordt vooral veroorzaakt door gebrek aan inzicht in de exacte samenstelling van de lozingen. Bovendien zijn er vaak onvoldoende betrouwbare toxiciteitsgegevens beschikbaar van de wél gesignaleerde stoffen. Dit illustreert de beperkingen van de stofgerichte aanpak en de voordelen van totaal-effluentbeoordeling. Voor het beoordelen van een lozing met de stoffenaanpak is informatie nodig over de samenstelling van een effluent en toxiciteitsdata. Als de benodigde informatie ontbreekt, kan geen totale beoordeling van het afvalwater worden gemaakt. Bij het toepassen van toxiciteitstesten is het ontbreken van deze informatie echter niet van belang, omdat een beoordeling wordt gegeven van het totale effluent. De toepassing van acute toxiciteitstesten bij de beoordeling van afvalwaterlozingen is dus een belangrijke aanvulling op de huidige stoffenaanpak.

Conclusies

Het onderzoek naar acute toxiciteit blijkt zinvol om aanvullend inzicht te krijgen in de milieubezwaarlijkheid van afvalwater. In de meeste gevallen werd een sterkere acute toxiciteit gemeten dan op basis van de stoffenaan-

pak naar voren zou zijn gekomen. Dit komt mede doordat bij het toxiciteitsonderzoek het totale effect van alle bekende, maar vooral ook alle onbekende stoffen wordt gemeten.

In dit onderzoek is alleen gekeken naar de parameter acute toxiciteit. Als bij een lozing geen acute toxiciteit wordt geconstateerd, wil dit nog niet zeggen dat de lozing niet milieubezwaarlijk is. Om een uitspraak te doen over de totale milieubezwaarlijkheid van een lozing moeten ook parameters als chronische toxiciteit, genotoxiciteit, bioaccumulatie en persistentie in ogenschouw worden genomen. Hierbij zal ook een weging moeten worden gemaakt welke parameters het zwaarste meetellen in het eindoordeel over de milieubezwaarlijkheid.

De gebruikte handreiking is een goede leidraad gebleken voor de uitvoering en interpretatie van acuut toxiciteitsonderzoek. Na een evaluatie en een aantal kleine aanpassingen is inmiddels de definitieve handreiking verschenen.

En verder?

Om te komen tot een brede toepassing van acute toxiciteitstesten is het noodzakelijk om een toetsingskader te ontwikkelen en ook in te voeren. Dit jaar begint het RIZA met de ontwikkeling van een maatlat (zie artikel van Tonkes en Ferdinandy op pagina 17). Het is goed om hierbij ook aandacht te schenken aan hoe om te gaan met indirecte lozingen in het kader van totaal-effluentbeoordeling.

Wat nu in de toekomst te doen als een afvalwater acuut toxisch blijkt te zijn? De resultaten van het toxiciteitsonderzoek zullen

eerst moeten worden getoetst aan de maatlat. Als de toxiciteit van het afvalwater hoger is dan de maatlat voorschrijft, zal moeten worden nagegaan welke maatregelen mogelijk zijn om de toxiciteit te reduceren. Daarvoor is het wel nodig om inzicht te hebben in de stoffen die de toxiciteit hebben veroorzaakt. Om hierachter te komen kan gebruik gemaakt worden van een handige identificatiemethode (zie artikel van Berbee e.a. op pagina 26).

Dit onderzoek is een eerste stap geweest in het 'ervaring opdoen' met de uitvoering en interpretatie van acuut toxiciteitsonderzoek. Alle regionale directies van Rijkswaterstaat en een groot deel van de regionale waterkwaliteitsbeheerders hebben aan het onderzoek meegedaan en ervaring opgedaan met deze nieuwe methode. Zo is een belangrijke stap voorwaarts gezet richting implementatie. Gezien het feit dat het voor de meeste waterkwaliteitsbeheerders een nieuw werkveld betreft en ook gezien de complexiteit van de uitvoering van het toxiciteitsonderzoek, zal in de toekomst kennisoverdracht een belangrijk aandachtspunt blijven. 

LITERATUUR:

- Baltus C. (2001). Acuut toxiciteitsonderzoek uitgevoerd door regionale waterkwaliteitsbeheerders. Rapportage van landelijk onderzoek. STOWA-rapport 01.03 / RIZA-rapport 01.001.
- Graaf P. de, J. Graansma, M. Tonkes, E. ten Kate en J. Maas (1997). Voorlopige handreiking toepassing acute toxiciteitstesten. FWVO-nota 97.03.
- Graaf P. de, J. Graansma, E. ten Kate, M. Tonkes en J. Maas (2000a). Toetsing voorlopige handreiking toepassing acute toxiciteitstesten: resultaten van landelijk onderzoek. FWVO-nota 00.03.
- Graaf P. de, M. Tonkes, E. ten Kate en J. Graansma (2000b). Handreiking bepaling acute toxiciteit van effluenten. FWVO-nota 00.06.