

3A
177

577

koper in het nederlandse milieu



TNO

Errata: TNO-Nieuws nr. 9, september 1972

Blz. 443 rechter kolom,

8 ^e regel van boven	Vroeg	moet zijn Vroey
14 ^e regel van boven	ml. g/1.	moet zijn meq./1.
24 ^e regel van boven	Campbel	moet zijn Campbell
24 ^e regel van boven	Pouboix	moet zijn Pourbaix

Blz. 507 tabel 1 in de titel: mg/kg moet zijn $\mu\text{g}/\text{kg}$
(=ppb)

Blz. 508 de laatste zin moet worden aangevuld met:
sen beide eerder genoemde gebieden. Dit
wordt

Blz. 514 noot¹) $\mu/1$ moet zijn $\mu\text{g}/1$

Blz. 516 punt 7, laatste zin moet zijn:

The intrinsic toxicity of copper towards
some organisms calculated on a weight for
weight basis, appears to be 3-5 times less
than that of mercury.

INHOUD

	blz.		blz.
Dr. A. SCHORS: <i>Koper in het Nederlandse milieu</i>	415	E. H. HUECK-VAN DER PLAS: <i>Voorkomen en toxiciteit van koper bij organismen in zoet en zout water: een literatuurstudie</i>	460
R. Th. ROSKAM†: <i>Kopervergiftiging in zee</i>	416	Dr. C. L. C. MEIJER: <i>De invloed van fosfaat op de toxiciteit van koper voor een alg</i>	468
H. J. HUECK: <i>Milientoxicologie en koper</i>	419	Mej. D. M. M. ADEMA, Mevr. Th. DE GROOT-VAN ZIJL: <i>De invloed van koper op de watervlo Daphnia Magna</i>	474
Drs. H. J. LAGEVEEN-VAN KUYK: <i>Toepassing en gebruik van koper in Nederland</i> ..	428	Mej. D. M. M. ADEMA, Mevr. S. J. DE SWAAF MOOY en Mej. P. BAIS: <i>Laboratorisch onderzoek over de invloed van koper op mosselen (Mytilus edilus)</i>	482
A. J. DE GROOT en K. H. ZSCHUPPE: <i>Koper in de Nederlandse delta</i>	437	G. J. VINK: <i>Vis-toxicologisch onderzoek met koper</i>	487
Dr. H. J. BOORSMA en C. H. J. ELZENGA: <i>Het kopergehalte van drink- en gebruikswater</i>	440	G. J. VINK: <i>Koper in vis</i>	493
W. BROUWER en J. A. VAN HOOVEN: <i>Een opname van het kopergehalte van enkele waterwegen, bepaald met continue analyse</i>	444	P. DE WOLF, W. Ch. DE KOCK en A. STAM: <i>Veldproeven over de invloed van koper en kwik op een natuurlijke mosselbank</i>	497
Dr. C. PRIES: <i>Analyse van koper en andere metalen in het milieu</i>	451	Drs. P. DE WOLF, Mej. W. E. LEWIS: <i>Een meetnet voor zware metalen langs de Nederlandse kust</i>	504
P. M. HOUPPT en B. J. TORRENGA: <i>Emissiespectrochemische bepaling van geringe hoeveelheden koper en andere elementen in biologisch materiaal</i>	452	Dr. H. J. HUECK: <i>Het belang van koper voor ons milieu. Een nabeschuiving</i>	511
P. J. VAN DUIN: <i>De fysisch-chemische toestand van koper in zeewater</i>	457		

Koper in het Nederlandse milieu

SAMENVATTING EN CONCLUSIES

1. In Nederland wordt jaarlijks tenminste 1600 ton koper toegevoegd aan de 2900 ton die de Rijn ons land binnenbrengt.
2. Het kustwater bevat vermoedelijk een enigszins verhoogde concentratie aan koper ($6-9 \mu\text{g l}^{-1}$) vergeleken met oceaanwater (ca $3 \mu\text{g l}^{-1}$). Deze concentratie vertoont aanzienlijke fluctuaties in plaats en tijd ($2-15 \mu\text{g l}^{-1}$).
3. Het binnenwater bevat gewoonlijk $10-20 \mu\text{g l}^{-1}$ koper, maar plaatselijk komen hogere concentraties voor met name in het Kanaal door Walcheren.
4. De weinige beschikbare gegevens over kopergehalten in organismen in het veld laten geen conclusies toe over koperbelasting.
5. Kopergehalten in organismen zijn vrijwel evenredig met kopergehalten in het water.
6. Bij de watervlo, de mossel en een vissoort (guppy) blijkt een gehalte van ca 100 mg kg^{-1} droge stof fataal te zijn. De marge ten aanzien van de natuurlijk voorkomende kopergehalten blijkt gering te zijn.
7. De toxiciteit van water waaraan, direct voor het onderzoek, koper werd toegevoegd, blijkt hoger te zijn dan die van verouderd water met eenzelfde koper concentratie.
De tolerantiegrens voor vers toegevoegd koper moet voor een aantal organismen op ongeveer $10 \mu\text{g l}^{-1}$ gesteld worden.
Bij vergelijking van de intrinsieke toxiciteit van koper en kwik op basis van gewicht, blijkt die van koper 3 tot 5 maal minder te zijn dan die van kwik.
8. Chronische vergiftiging van de mens door koper valt niet te vrezen, evenmin als acute kopervergiftiging door oppervlaktewater.
9. Koper is voor vele organismen een essentieel element. Hierdoor is ook een minimumconcentratie in voedsel of milieu voor een aantal organismen (b.v. cultuurplanten, schapen) nodig om deficiëntieverschijnselen te voorkomen.
10. Het milieuprobleem van koper is gelegen in de geringe marge tussen de hoeveelheid koper die noodzakelijk aanwezig moet zijn en de hoeveelheid welke schade berokkent.
11. Het is gewenst puntlozingen van koper (in ionaire vorm) tegen te gaan. Gewezen wordt op de mogelijkheid van vermindering van de toxiciteit van het te lozen effluent door veroudering in spaarbekkens.
12. De biologische activiteit van koperhoudende effluenten kan voorlopig het beste met een biologische toets (b.v. met daphnia magna) gecontroleerd worden. Een redelijke analytische chemische toets is op dit moment onmogelijk.

H. . HUECK
Hoofd Afdeling Biologie
Centraal Laboratorium TNO

Koper in het Nederlandse milieu

Ter Inleiding

Het is aan velen op het ogenblik duidelijk, dat het onderzoek van milieuproblemen „multidisciplinair” en „op ecologische basis” dient te geschieden. Tussen constateren van deze behoefte en het konkretiseren daarvan in feitelijke researchprojecten ligt echter vaak een lange weg. Enerzijds zal men een reële inhoud moeten geven aan deze zo vlot uitgesproken woorden. Anderzijds zal men mensen en materieel moeten vrijmaken voor dit doel. Beide zaken vergen moeite en tijd, soms veel meer dan de belanghebbenden lief is. Het geeft echter voldoening wanneer ondanks alle moeilijkheden een project zover gerijpt is dat het met resultaten in de openbaarheid kan komen, hetgeen in dit speciale „kopernummer” van TNO-Nieuws geschiedt.

In de jaren 1964 en 1965 leidde de behoefte aan verbreding van de basis van de marien-biologische werkgroep bij het Centraal Laboratorium TNO, samen met de opkomende herkenning van het nu zo actuele probleem van de milieuverontreiniging, tot het opstellen van een programma van onderzoek naar de vervuiling van het marien milieu. Voor dit soort onderzoek leek het Centraal Laboratorium, als multidisciplinair instituut, bij uitstek aangewezen.

Na overleg met verschillende deskundigen, uit kringen van industrie en wetenschap, leek het nuttig te beginnen met een onderzoek naar de schadelijkheid van persistente verbindingen in waterig milieu, waarbij de opnamecapaciteit van de zee een kernpunt zou vormen. Een overweging hierbij was, dat de kennis van de schadelijkheid van persistente verbindingen nog grote hiaten vertoonde. Tevens was het duidelijk, dat op lange termijn de vervuiling van de zee een groot probleem zou gaan vormen, voor de beoordeling waarvan nog vele feiten op tafel zouden moeten komen. De sterk toegenomen belangstelling voor deze problematiek in de laatste jaren wijst er wel op, dat deze keuze toentertijd terecht is gedaan.

In de loop van het werk is al spoedig gebleken, dat een onderzoek als het onderhavige de capaciteit van een laboratorium als het Centraal Laboratorium, ook al is dit multidisciplinair opgezet, verre te boven gaat, zodat samenwerking met anderen geboden is. Het is verheugend, dat de niet lang geleden ingestelde „Commissie TNO voor het onderzoek ten dienste van het Milieubeheer”, gebruikmakend van voorbereidend werk door het „Studie- en Informatiecentrum TNO voor het onderzoek

ten dienste van het Milieubeheer”, de coördinatie binnen en buiten TNO van deze problematiek als een van haar eerste taken heeft willen ter hand nemen door het instellen van een Stuurgroep „Noordzee en estuaria”. Het door het Centraal Laboratorium TNO in 1966 begonnen onderzoek past hier moeiteloos in.

Tevens is gebleken, dat een beperking tot uitsluitend zeewaterproblemen niet zinvol is, daar de aanvoer van de belastende stoffen via de grote rivieren en via pijpleidingen gebeurt, waarin zoet en brak water overheersen.

Als groep te onderzoeken stoffen leken de zware metalen zoals koper kwik, cadmium, etc., in de eerste plaats in aanmerking te komen. Binnen deze groep werd de aandacht gevestigd op koper als te onderzoeken metaal door een in 1965 opgetreden calamiteit, waarbij langs de Hollandse stranden massale vissterfte optrad door het dumpen van een koperverbinding aan het strand bij Noordwijk. Deze calamiteit is beschreven door de vorig jaar overleden onderzoeker Drs. R. Th. Roskam. Het is meer dan een daad van piëteit deze beschrijving, verschenen in „Water Bodem Lucht”, als openingsartikel van de reeks bijdragen te herdrukken¹⁾.

Tevens is het verheugend, dat de artikelen van de medewerkers van het Centraal Laboratorium TNO aangevuld konden worden met overzichtartikelen van de heren De Groot en Zschuppe van het Instituut voor Bodemvruchtbaarheid, de heer Boorsma van het Rijksinstituut voor Drinkwatervoorziening, Mevr. Lageveen-van Kuyk van de Economisch-Technische Afdeling TNO en Mevr. Hueck-van der Plas van het Studie- en Informatiecentrum TNO voor onderzoek ten dienste van het Milieubeheer.

Voor deze bijdragen zijn wij bijzonder dankbaar. Wij hopen, dat het geheel het inzicht in de rol van koper als afvalstof in het milieu zal verdiepen. Tevens geloven wij, dat deze artikelenserie er toe kan bijdragen in breder kring een beeld te geven van de mogelijkheden, maar ook de moeilijkheden van het onderzoek van milieuproblemen door een veelzijdig samengestelde researchgroep.

Dr. A. Schors
Directeur Centraal Laboratorium TNO

¹⁾ Gaarne zeggen wij dank aan het „Rijksinstituut voor Visserijonderzoek” en de redactie van „Water Bodem Lucht” voor de toestemming hiertoe.

Kopervergiftiging in zee^{*)}

R. Th. ROSKAM †

(R.I.V.O.) Rijksinstituut voor Visserijonderzoek

Tengevolge van het storten van kopersulfaat aan het strand bij Noordwijk trad in maart-april 1965 ernstige vissterfte langs de Hollandse kust op. Bij het Rijksinstituut voor Visserijonderzoek kwamen op maandag 29 maart de eerste meldingen binnen over dode vis op het strand bij Zandvoort. Nadat nog dezelfde dag was geverifieerd, dat er inderdaad sprake was van massale sterfte, werd op 30 maart een globaal onderzoek ingesteld, dat aan het licht bracht, dat het hier ten eerste ging om een plaatselijk verschijnsel, dat van Scheveningen tot IJmuiden reikte en dat ten tweede vissen van uiteenlopende grootte en soort het slachtoffer waren geworden; vissen die een typische doorsnee van de bevolking in het kustwater vormden. Vergiftiging leek dus waarschijnlijk. Het onderzoek naar de oorzaak van de vergiftiging werd begunstigd door een grote dosis geluk, als die van de man, die een speld in de hooiberg zoekt en toevallig zijn hand prikt aan de speld. Het toeval wilde n.l., dat bij deze eerste tocht de weg langs een afrit bij Noordwijk voerde, waarlangs enkele kilogrammen, grotendeels onder het zand geraakte, kopersulfaatkristallen lagen. Dat bovendien op het laboratorium, nog niet lang daarvoor, een onderzoek was gedaan naar koperaccumulatie in oesters en er daardoor à bout portant hoeveelheden koper tot 1 mikrogram (μg = miljoenste gram) per liter water konden worden bepaald, vormde een tweede gelukkige omstandigheid, die het mogelijk maakte snel vast te stellen, dat overal, waar dode vis werd gevonden, het zeewater honderden mikrogrammen Cu^{++} per liter bevatte (normaal slechts 1-3 μgr). Op het strand was niets meer te zien, het materiaal was blijkbaar „schoon” opgelost. Het grondwater langs de laagwaterlijn in de buurt van de afrit bij Noordwijk bevatte echter 2,5 milligram per liter! De figuren 1 t/m 5 geven een globaal beeld van de wijze waarop het koper zich in de loop van april in zee verspreidde. Aanvankelijk was de wind zwak tot matig en de stromingspatronen 1 t/m 3 zijn

Marine copper pollution

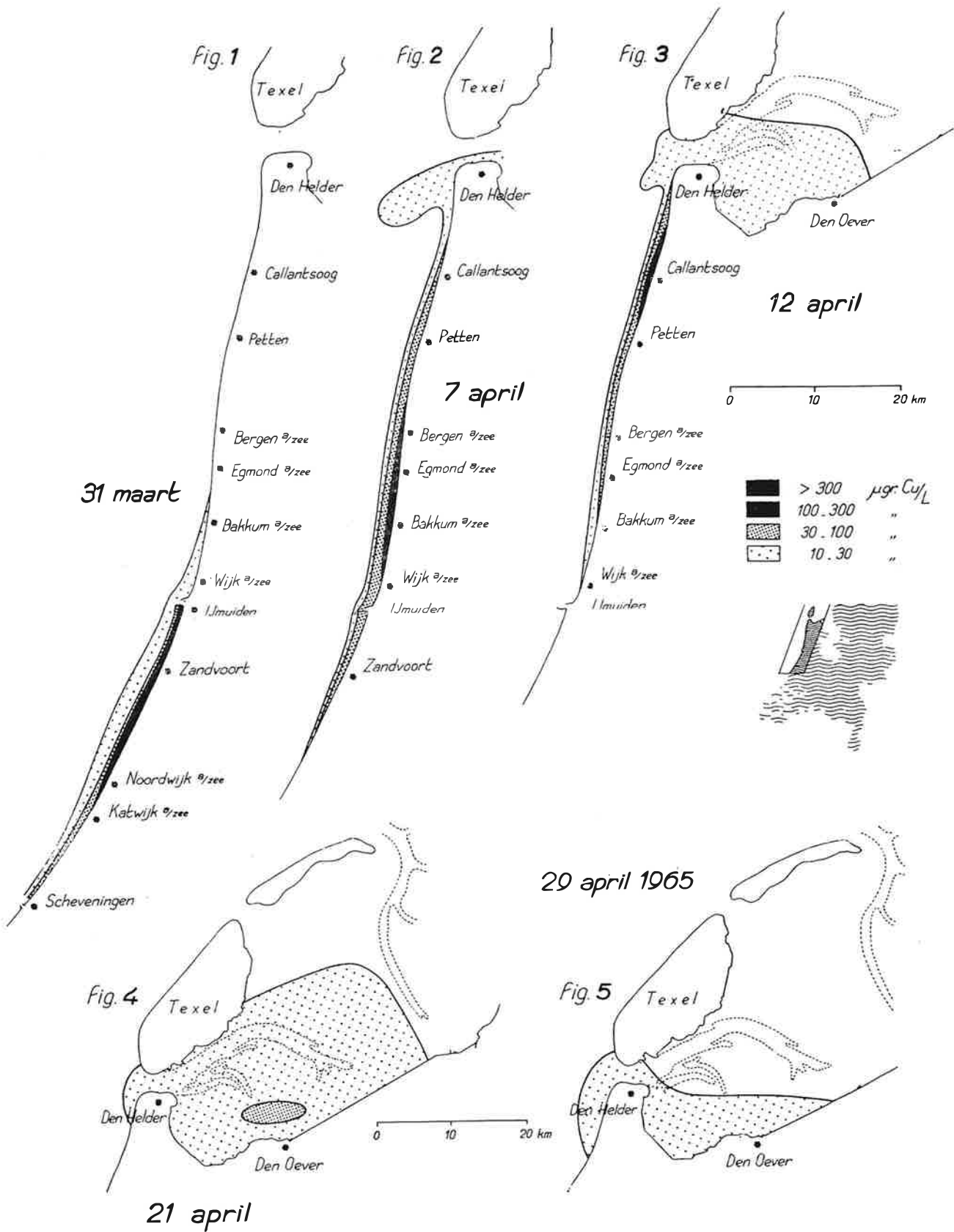
dan ook vrijwel uitsluitend aan de getijbeweging toe te schrijven. Het water voor de kust van Holland stroomt bij vloed naar het noorden, bij eb naar het zuiden. De vloedstroom legt echter een grotere afstand af dan de ebstroom, zodat een noordwaarts gerichte resultante, de z.g. reststroom, overblijft. De wind was in de 2e en 3e decade van april veel sterker en had een duidelijke invloed op de verdere verspreiding van het koper.

Nadat de koperbel de Waddenzee had bereikt, (het centrum passeerde het Marsdiep op 13 april met een concentratie van 133 $\mu\text{gr}/\text{L}$ aan de zuidkant) trad een snelle verdunning op in het zeer turbulente Marsdiepgebied, waar per tij 900 miljoen kubieke meter water in- en uitstroomt. De verdere verspreiding in de Waddenzee geschiedde onder invloed van de harde wind zeer snel (op 15 april was het kopergehalte in het gebied tussen Harlingen en Terschelling al even hoog als in het Marsdiep). De laatste resten, die in fig. 5 bij Wieringen te zien zijn, zijn daar door de in die dagen overwegende Noordenwind heen geblazen.

Alleen het feit al, dat in het Marsdiep van 12 t/m 15 april een kopergehalte van gemiddeld 27 $\mu\text{gr}/\text{L}$ aanwezig was, houdt in, dat er toch zeker 20 ton koper in het spel was. Eenzelfde orde van grootte vindt men bij schattingen gebaseerd op de figuren 1 en 2.

Het meest opvallende aspect van het verdunningsproces is de traagheid, waarmee het verloopt. Ondanks de aanwezigheid van miljarden kubieke meters water duurt het 14 dagen vóór de koperbel 5 × verdund is, een fraaie demonstratie van het grote gewicht van de tijdsfactor bij mengingsprocessen in zee. Voor het karakteriseren van de mate van verontreiniging van een binnenwater komt men vaak al een heel eind door de verdunningsfactor, de volumeverhouding tussen afval en ontvangend water, aan te geven. Op zee zegt deze factor weinig of niets. Alleen een tijdruimte patroon, waaruit blijkt, hoeveel afval stof zich gedurende hoe lange tijd in hoeveel water bevindt, geeft ons daar de nodige informatie.

* Met toestemming van de redactie overgenomen uit „Water, Bodem en Lucht” 1964.



Men zou zich de gigantische verdunningsfactor (het volume van alleen al de Noordzee is 50000 kubieke kilometer, 600 maal het jaardebiet van de Rijn ;de wereldzee is nog een $25000 \times$ groter!) pas ten nutte kunnen maken, als men over een goedkope methode beschikte om de afvalstoffen zeer sterk te verspreiden. Er is immers, radioactief afval daargelaten, geen afvalstof te noemen, die zo giftig is en in zulke grote hoeveelheden wordt geproduceerd, dat ze *homogeen verdeeld* in de Noordzee ook maar de geringste schade aan flora of fauna zou kunnen toebrengen. Daartoe zou van een extreem giftige stof, die bijvoorbeeld nog in een concentratie van 1 mikrogram per liter schadelijk is, 50000 ton nodig zijn! Het probleem van de *verantwoorde* lozing op zee is dus te reduceren tot een probleem van afvalverspreiding. Dit is de bestudering alleszins waard, omdat het er bepaald niet onoplosbaar uitziet. Er is op dit gebied een heel gamma van mogelijkheden, van alledaagse tot futuristische, van het simpelweg lozen in een riviermond, het lozen via een pijpleiding, het lozen vanaf een schip, het verstuiven vanaf een schip, tot het lozen in de diepzee vanaf een onbemande duikboot toe. Al naar de giftigheid, de totale hoeveelheid en de concentratie van de actieve stof in het afval, zal nu eens de ene dan weer de andere methode het meest doelmatig zijn. Eén ding staat wel vast: met het groeien van de bevolkingsdichtheid, de industrialisatie en de bedrijfsgrootte zal de methode van het stiekem wegmoffelen steeds onbruikbaar en onaanvaardbaarder worden.

Concentreert men zich op het probleem van de afvalverspreiding, dan heeft men ook geen moeilijk-

heden met de veelsoortigheid van de afvalstoffen, een veelsoortigheid, die bijvoorbeeld de vernietiging langs chemische weg praktisch onuitvoerbaar maakt. De geneigdheid van de individuele ondernemer, om aan de vaak incidentele problemen rond giftig afval veel geld, tijd en talent te spenderen, is uiteraard niet groot. Een centrale aanpak is dus gewenst. Een voor allerlei soorten giftig afval toepasbare verspreidingsmethode op zee zal de technische mogelijkheid tot zulk een centrale aanpak kunnen scheppen.

De eerste impuls is, om wraakzuchtig te zeggen: wie vervuult betaalt, dus is dit een probleem, dat de industrie aangaat. Zien we echter de industrie niet alleen als een uit winstbejag tot schade van anderen bedreven activiteit, dan doet zich de vraag voor, waarom het opruimen van onze particuliere huishoudelijke afvalstoffen *wel* een overheidstaak is, maar het onschadelijk maken van de gifstoffen, die onze hang naar welvaart nu eenmaal voortbrengt, *niet*.

Met wettelijke verbodsbepalingen alleen is het probleem van het zeer giftige afval niet op te lossen, waarmee niet gezegd wil zijn, dat men ze geheel zou kunnen ontberen. Het wetsontwerp waterverontreiniging regelt deze materie nog niet definitief, maar schept in artikel 1, 2 de mogelijkheid dit bij algemene maatregel van bestuur te doen. Het is te hopen, dat dit op redelijke termijn zal kunnen gebeuren en dat dan niet alleen de ondeugd strafbaar, maar tegelijkertijd ook de deugd aantrekkelijk kan worden gemaakt, door het geven van een voor alle partijen bevredigende oplossing voor het probleem van de zeer giftige afvalstoffen.

H. J. HUECK

Centraal Laboratorium TNO

„Down on the borders they are felling trees - good trees. Some of the trees they just cut down and leave to rot — orc-mischief that; but most are hewn up and carried off to feed the fires of Orthanc. There is always a smoke rising from Isengard these days. Many of those trees were my friends, creatures I had known from nut and acorn; many had voices of their own that are lost forever now. And there are wastes of stump and bramble where once there were singing groves. I have been idle. I have let things slip. It must stop.”

Treebeard, a tree-herd, in „The Two Towers”, by J. R. R. Tolkien.

Samenvatting

1. Geconstateerd wordt dat milieutoxicologie een breder gebied bestrijkt dan de gebruikelijke medische toxicologie.
2. Milieutoxicologie heeft betrekking op verstoringen van structuur en functie van het humane ecosysteem die de normale variaties te boven gaan.
3. Een indeling van de verschijnselen wordt gegeven, gebaseerd enerzijds op objectieve criteria ontleend aan het ecosysteem, anderzijds op de subjectieve criteria van de menselijke perceptie.
4. Betoogd wordt dat men in milieutoxicologisch onderzoek gebruik zal moeten maken, zowel van laboratoriumals veldwerk met organismen in alle ontwikkelingsstadia, die verschillende trofische niveaus vertegenwoordigen.
5. Als parameters voor dit onderzoek worden mortaliteit, groei en reproductie beschouwd.
6. De langdurige biologische experimenten dienen begeleid te worden door frequente en simultane bepaling van het toxisch agens in het milieu en het proeforganisme.
7. Als model voor het onderzoek in de onderhavige artikelenreeks is koper gekozen, omdat het een persistente toxische verbinding is, maar tegelijkertijd een essentieel sporenelement waarvan specificiteit tegen bepaalde organismengroepen verwacht wordt. Tevens is bekend, dat het gehalte aan koper sinds 1900 is toegenomen, terwijl ook de nabijheid van industrie tot hogere gehalten leidt.

1. Inleiding

Toxicologie, in de gebruikelijke zin van het woord, is die tak van wetenschap die de vergiften en hun effect omvat. Normaliter is dan voorts „vergift” een stof die bij een levend wezen schade aan structuur of functie teweegbrengt. „Schade” is een relatief begrip dat pas zin krijgt, wanneer het in verband met een gegeven systeem wordt beschouwd.

Summary

In this paper fundamental aspects of environmental toxicology are discussed.

1. The author states that environmental toxicology has a wider scope than traditional (medical) toxicology.
2. Environmental toxicology is concerned with disturbances of structure and function of the human ecosystem surpassing the normal variation.
3. A classification of the phenomena is given based on objective criteria derived from the ecosystem itself on the one hand and on subjective criteria derived from human perception on the other hand.
4. It is argued that environmental toxicological research should comprise both laboratory and field studies using all developmental stages of organisms representing different trophical levels.
5. As parameters in these studies mortality, growth and reproduction should be used.
6. During the long-term biological experiments frequent and simultaneous determinations of the concentration of the toxic in both the environment and the organisms should be carried out.
7. As model compound for the studies reported in this special issue copper has been chosen, because it is persistent, and toxic — but at the same time an essential micronutrient —, because it was expected to show specific activity towards some groups of organisms and finally, because it was known that the concentration of copper had increased since 1900 and that this increase was partly caused by industrial activities.

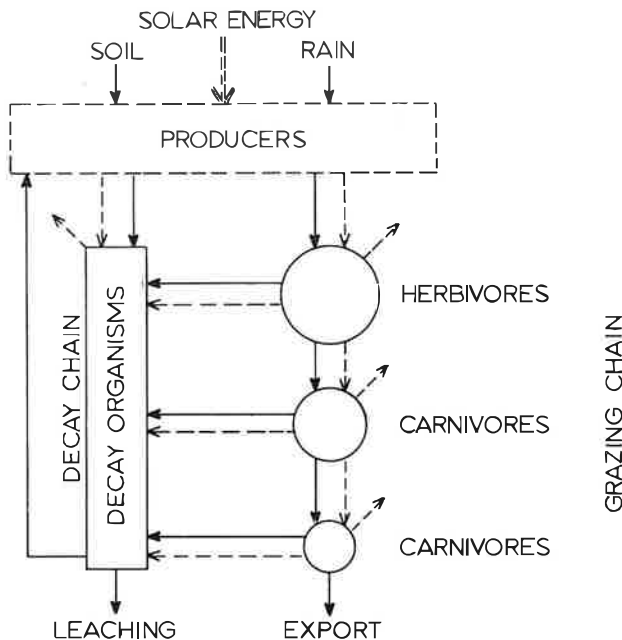
De beschadiging van bacteriën door sulfonamiden zal door de lijder aan een infectieziekte met vreugde worden begroet. Desnoods zal hij er enige geringe toxische bijverschijnselen voor over hebben. Van het standpunt van de bacteriën gezien zijn de sulfonamiden echter een dodelijk gif. Door de historische ontwikkeling als een tak van de medische

wetenschap is de toxicologie nogal toegespitst op de mens als organisme. Wanneer in de aanhef van deze beschouwing dan ook gesproken wordt van milieutoxicologie, dan is het de bedoeling hiermee uit te drukken dat de bestudering van de invloed van schadelijke agentia op een wijder systeem dan dat van de lijfelijke mens beoogd wordt.

2. Wat is milieutoxicologie?

Het fysische bestaan van de mens is alleen denkbaar in samenhang met een bij hem behorende omgeving. Tussen de mens en zijn fysisch, chemisch en biotisch milieu (d.w.z. flora en fauna in water, bodem en lucht) bestaan velerlei relaties, die bovendien onderling afhankelijk zijn. Het geheel van de mens samen met zijn milieu vormt het humane ecosysteem. Dit systeem bezit zelf-stabiliserende eigenschappen door de aanwezigheid van negatieve terugkoppeling in vele van de essentiële relaties. Het bezit een zekere eigen harmonie. Het is evenwel geen statisch, maar een dynamisch geheel dat

voortdurend fluctuaties vertoont, afgezien nog van evolutie op lange termijn. „Schade” in de zin van een toxisch effect ten aanzien van dit systeem zal dus niet iedere willekeurige structurele of functionele verandering zijn, het dient een essentiële diepgaande ingreep te zijn, een „verstoring”. Naar analogie van de functionele definitie van ziekten van het menselijk lichaam, zoals die is gegeven door *Drogendijk* (1961) zou men deze milieuverstoring kunnen definiëren als „een proces dat zich ontwikkelt uit de interactie van een schadelijk agens en de reactie van het ecosysteem hierop, dat leidt tot een ontregeling van het harmonisch functioneren van de levensgemeenschap in zulk een mate dat de normale variaties in dit functioneren overschreden worden”. De fundamentele problemen van de bestudering van de milieuverstoringen zijn die van het opsporen van de schadelijke agentia, het analyseren van de causale relatie tussen het schadelijk agens en de ongewenste milieuverschijnselen, het onderzoek van de verspreidingswegen van het schadelijk agens en, last but not least, het aangeven van mogelijkheden tot voorkomen of compenseren van ongewenste milieuverschijnselen en het herstel van gekonstateerde schade.



GM. WOODWELL (1970)

diagram 1.

Fig. 1. Kringloop van energie en voedingsstoffen in een natuurlijke gemeenschap. Naar G. M. Woodwell (1970).

Flow of energy and nutrients in a natural community

solar energy	zonne-energie
soil	bodem
rain	regen
producers	producenten
decay chain	afbraakketen
decay organisms	afbraakorganismen
herbivores	herbivoren
carnivores	carnivoren
leaching	uitlogen
export	uitvoer

In de bovenstaande beschouwing is milieuschade gerelateerd aan de reactie van het (humane) ecosysteem. Wat hierin „ongewenst” is, wordt echter enerzijds subjectief bepaald door de wijze waarop de mens als soort zijn omgeving ervaart. Anderzijds is het nodig ook objectieve criteria op te sporen, ontleend aan de kennis die de ecologie ons verschaft over structuur en functioneren van een ecosysteem. Bezien we eerst de subjectieve criteria.

Biologisch gezien zou men de mens als een aerob, heterotroof, warmbloedig organisme kunnen kenschetsen dat in sociale verbanden leeft en zijn omgeving waarneemt door de vijf zintuigen. Dit houdt in dat de mens actief uit zijn omgeving ademhalingslucht, water en voedsel moet opnemen, dat hij ruimte en intermenselijke betrekkingen nodig heeft en dat hij bloot kan staan aan optische, auditieve, olfaktorische en tactiele stress. Tenslotte is hij passief blootgesteld aan natuurfenomenen, als bijv. straling die zich indirect manifesteren via reacties op het moleculair en cellulair niveau.

Het zou echter onjuist zijn zoals boven reeds is opgemerkt, als men alleen de direct door de mens aan zichzelf waargenomen verschijnselen als milieuschade zou classificeren. Verstoringen elders in het ecosysteem kunnen indirect de mens beïnvloeden. Ook onafhankelijk van deze anthropocentrische beschouwingwijze echter dienen we ons ervan bewust te zijn dat het ecosysteem als geheel en onafhankelijk van de mens zijn „eigenheid” kan verliezen. Het is dus nodig na te gaan welke essentiële kenmerken we aan een ecosysteem kunnen vaststellen.

Een centraal ecologisch theorema stelt dat de stabiliteit van een ecosysteem nauw verbonden is met

de soortenrijkdom (diversiteit) (cf *Odum*, 1959). Deze soortenrijkdom is gegroepeerd in een serie min of meer duidelijke „trofische niveaus” (*Lindeman*, 1942), d.w.z. voedingsniveaus (zie fig. 1, ontleend aan *Woodwell*, 1970).

Deze trofische niveaus onderhouden energie- en stofrelaties met elkaar in die zin dat zij verbonden zijn door voedselketens. Uiteindelijk blijkt dat binnen het gehele systeem stof- en energicycli optreden. Voor het functioneren van het ecosysteem en het vóórkomen van het leven op aarde is het ongehinderd functioneren van deze cycli een essentiële voorwaarde (*Kuenen*, 1970). Derhalve zullen wij als milieuverstoren in objectieve zin die ingrepen in het ecosysteem moeten classificeren die de structuur (de opbouw) van het systeem en de stof- en energicycli essentieel beïnvloeden. Met essentieel wordt bedoeld zodanig veranderen dat de natuurlijke variatie of variatie-potentie wordt overschreden. Dit zal zich manifesteren in een wijziging van de getalsverhoudingen tussen de leden van het systeem, die uiteindelijk tot verstoring kan leiden. Dit kan worden veroorzaakt door enerzijds:

- uitsterven
- verminderen van groei en reproductie en
- emigratie van enkele soorten,

en anderzijds door:

- excessieve stimulatie van groei en reproductie (eutrofiëring, waterbloei)
- immigratie en
- mutatie van enkele soorten.

Deze twee groepen objectieve milieutoxicologische effecten (d.w.z. niet-anthropocentrische effecten) kan men als biodepressief en biostimulerend aanduiden (cf *Nat. Acad. Sci*, *Wastes management concepts for the coastal zone*, 1970). De bestudering ervan vereist vaststelling van mortaliteit, groei en reproductie van representanten van verschillende trofische niveaus van het ecosysteem, alsmede aantrekking en afstoting (attraction and repellency) van agentia die op het ecosysteem inwerken.

Het bovenstaande kunnen we in het volgende schema samenvatten (tabel 1).

Uit de voorgaande beschouwing zal het duidelijk zijn dat de gangbare indeling van milieuvervuiling in water-, bodem- en luchtvervuiling uitsluitend een praktische betekenis heeft, in het bijzonder omdat de methodes die men daarbij gebruikt voor deze media zo verschillend zijn. Voor de feitelijke „milieuverstoring” is het van ondergeschikte betekenis of een schadelijk agens b.v. kwik via water, lucht of bodem het uiteindelijke effect teweegbrengt. De studie van de milieutoxicologie in de bovengeschetste zin zal zich dan ook bezig moeten houden met de essentiële (causale) relaties d.w.z. die van agens → receptor → effect. Tevens is het gewenst de gangbare anthropocentrische (medische) opvatting van toxicologie te verruimen en een integrale benadering via structuur en functie van het ecosysteem te benadrukken.

In het bovenstaande is over het „humane ecosysteem” gesproken in theoretische zin zonder enige ruimtelijke of structurele beperking. Als zodanig zou de milieutoxicologie het totale gebeuren op

Tabel 1. Milieutoxicologie van het humane ecosysteem
(*Environmental toxicology of the human ecosystem*)

Agentia	Vehiculum (transport medium)	Effekt	
		objektief	subjektief = anthropocentrisch
<i>chemisch</i> biodegradabele stoffen persistente stoffen toxische stoffen biostimulantia	water bodem lucht	<i>biodepressie</i> letaliteit groeiremning reproductieremming „repellency” (emigratie)	<i>metabolische stress</i> respiratoir nutritief moleculair
		<i>biostimulatie</i> mutabiliteit groeibevordering reproductiebevordering „attraction” (immigratie)	<i>sensorische stress</i> optisch auditief olfactorisch tactiel
<i>fysisch</i> warmte geluid licht (elektriciteit) radioactiviteit			<i>sociale stress</i> (o.a. leidend tot agressie)
<i>biotisch</i> mikro-organismen makro-organismen de mens			

aarde in zijn beschouwingen moeten betrekken. Dit is in de praktijk onmogelijk. Men zal de studie beperken tot subsystemen waarvoor evenwel de besproken wetmatigheden geldig blijven. Uiteindelijk zal men de deeltjes van de legpuzzel weer bij elkaar moeten brengen, al zal men zich realiseren dat dit een verbijsterende hoeveelheid werk inhoudt.

3. Milieutoxicologisch onderzoek in de praktijk

Hierboven is reeds aangeduid dat men zich bij de praktische uitvoering van onderzoek, gebaseerd op de besproken principes, beperkingen moet opleggen. Men zal zich dienen te beperken tot een zo goed mogelijk omschreven subsysteem en voorts die aspecten onderzoeken die te weinig aandacht gehad hebben. Het is nl. niet zo dat over bepaalde problemen, b.v. de milieugevaren van zware metalen, niets bekend zou zijn. Het is veeleer de ecologische benaderingswijze van de problemen die de bekende feiten in een nieuw daglicht plaatst en lacunes in deze kennis naar voren brengt.

In het geval van de biologische groep van het Centraal Laboratorium TNO hebben een aantal overwegingen gegolden (cf Hueck & Adema, 1968) die in het volgende zullen worden behandeld. Binnen de groep bestond op grond van vroegere ervaring (biologisch bederf van materiaal) een zekere kennis van toxiciteitstoetsen met mikro-organismen en evertibraten (niet-gewervelden) in waterig milieu, in het bijzonder ook zeewater. Het leek nuttig deze kennis dienstbaar te maken aan het evalueren van toxische effecten van industrieel afvalwater. In ons aan zee gelegen land is het daarbij onontkoombaar, dat men het opnamevermogen van de zee, in het bijzonder de kleine ondiepe Noordzee in zijn overwegingen betreft (*De Wolf*, 1965). Bij onderzoek over watervervuiling heeft lange tijd het effect van organisch afbreekbaar vuil centraal gestaan, ook bij de toenemende lozing op zee (zie b.v. *Zijlstra*, 1966). In het afgelopen decennium is het echter duidelijk geworden dat toxisch afvalwater en in het bijzonder afvalwater dat persistente toxische stoffen bevat speciale aandacht vereist. De dramatische ontwikkelingen rond kwik (zie kwiknummer TNO-Nieuws juli, 1971) spreken hier boekdelen. In 1965 werd dan ook besloten onderzoek te gaan doen over de biologische effecten in waterig milieu van persistente toxische verbindingen in het bijzonder met het oog op industriële afvalstoffen, en geleid door ecologische overwegingen, zoals die in § 2 gegeven zijn. Hierbij doen zich direkt een aantal problemen voor. Enerzijds is dit de keuze van de proefobjecten. Anderzijds is dit de keuze van de proefomstandigheden.

Ten aanzien van de proeforganismen is het duidelijk dat men niet met alle organismen uit zoet en zout water tegelijkertijd kan experimenteren. Men zal representatieve organismen moeten kiezen om de daarmee verkregen resultaten als model te laten

dienen. Als zodanig viel de keus op vertegenwoordigers van verschillende trofische niveaus, nl. algen als primaire producenten, zoöplankton en enkele soorten crustaceëen als primaire consumenten en vissen als carnivoren. Deze organismen vormen een voedselketen zodat men hierin desgewenst ook het fenomeen van concentratie (accumulatie) en transport in de voedselketen, dat bij persistente toxicantia als DDT en kwik zo belangrijk is gebleken, kan bestuderen. Het betrekken van zo verschillende soorten organismen in het onderzoek is niet alleen theoretisch van belang, maar heeft ook een zeer praktische achtergrond. De gevoeligheden van deze organismen voor ongewenste invloeden lopen nl. op onvoorspelbare wijze uiteen.

Patrick, Cairns en Scheier (1968) voerden kortdurende (4-5 dagen) toxiciteitstoetsen uit met vissen, diatomeeën en slakken. In tabel 2 zijn sommige van hun resultaten (afgerond) weergegeven uitgedrukt als de concentratie waarbij 50% sterfte optreedt (LC 50).

Tabel 2. Toxiciteit van enkele verbindingen voor vissen, diatomeeën en slakken
(Toxicity of some compounds to fishes, diatoms and snails)
(Data adapted from Patrick et al., 1968)

Verbinding	Concentratie in mg/l (= ppm) waarbij 50% sterfte optreedt (LC50)		
	vissen	diatomeeën	slakken
chromium ^{III}	110	0,2	17
chromium ^{VI}	170	7,8	17
koper ^{II}	1,3	0,8	—
zink ^{II}	3,3	4,3	1,0
NH ₃	3,4	420	90
fenol	14	260	94
alkylbenzeen-sulfonaat (ABS)	17	10	34

Men zou verwachten dat binnen de groep „vissen” per metaal de gevoeligheid minder uiteen zou lopen. Hoewel dit enigmate het geval is, zijn de verschillen toch nog wel aanmerkelijk.

Rehwoldt (1971) vergeleek zes zoetwatervissoorten in dit opzicht (tabel 3).

Ongunstig voor het onderzoek is, dat een bepaalde vissoort niet consistent de meest gevoelige blijkt te zijn voor de verschillende metalen. Men kan dus zijn eindconclusie moeilijk op één soort baseren.

De gebruikelijke maat voor het aanduiden van lethale effecten in waterig milieu is LC 50 d.w.z. de concentratie waarbij 50% van de toetsdieren door het onderzochte agens sterft. Deze LC 50 is sterk afhankelijk van de tijdsduur van het experiment (*Sprague*, 1969); hoe langer de proef duurt, hoe lager de vereiste concentratie voor 50% sterfte.

Uiteindelijk zal de LC 50 asymptotisch een waarde bereiken gelijk aan die voor een oneindige expositieduur, zoals deze onder omstandigheden van vervuild water zal optreden. Hiervoor zijn proefduren van vele weken tot maanden nodig. Gelet op de persistentie van vele milieutoxicantia kan dus met de gebruikelijke proefduren van 1-4 dagen (ter bepaling van acute toxiciteit) niet worden volstaan. In het bijzonder bij deze langer durende experimenten blijkt dat de mortaliteit van volwassen dieren bepaald niet de gevoeligste indikator is voor toxiciteit. Enerzijds is er groot verschil tussen de gevoeligheid van eieren, larvale stadia en volwassen dieren (zie b.v. *McKim & Benoit*, 1970). Anderzijds blijken levensverschijnselen als groei en reproductie soms 10 tot 30 × gevoeliger indikator te zijn dan de eenvoudige LC 50. *Mount* (1968) en *McKim & Benoit* (1970) stelden dit voor vissen vast bij koper^{II}; *Brungs* (1969) insgelijks voor Zn^{II}. Onze eigen voorlopige resultaten met watervlooiën (*Hueck & Adema*, 1968) laten hierover ook geen twijfel. Zoals betoogd, zijn juist groei en reproductie ecologisch van grote betekenis, zodat een grondig milieu-toxicologisch onderzoek betrekking zal moeten hebben niet alleen op verschillende diersoorten, maar ook op verschillende ontwikkelingsstadia daarvan, terwijl naast mortaliteit ook groei en reproductie gemeten dienen te worden. Dit laatste gaat het best met proefdieren die men hun gehele levenscyclus in laboratoriumomstandigheden kan laten volbrengen. Men kan dan de invloed van het toxicans over enkele generaties nagaan, hetgeen echter wel lange proefduren impliceert. Het zal duidelijk zijn dat de eis van kweekbaarheid het aantal mogelijke proefdieren ernstig beperkt. In het bijzonder in het mariene milieu is het aantal kweekbare soorten vooralsnog gering (cf *Kinne*, 1968). Een deel van het onderzoek van onze milieutoxicologische groep is dan ook op dit onderdeel gericht.

Naast de gecompliceerdheid van de keuze van het proeforganisme is die van de proefomstandigheden niet minder moeilijk. In het bijzonder de eis van

langdurige experimenten maakt dat de gebruikelijke simpele acute toxiciteitstoets, zoals die b.v. in *Standards methods for the examination of water and wastewaters, 13th edition* (1969) beschreven wordt, onvoldoende is. Deze toetsen, voornamelijk voor vissen bedoeld, gaan uit van experimenten in aquaria waarin het water niet wordt ververst en de dieren niet worden gevoerd.

Hieraan kleven ernstige bezwaren. *Holden* (1962) toonde reeds aan dat van het oorspronkelijk gedoseerde DDT in aquariumwater na 24 uur nog slechts 5% aanwezig is. Wanneer men voer, b.v. algen, aan het water toevoegt zal men eveneens adsorptieverschijnselen kunnen krijgen. *Södergren* (1968) toonde aan dat DDT in water binnen 15 seconden geadsorbeerd wordt aan de groene alg *Chlorella*. Voor langer durende experimenten zal men dan ook de voorkeur geven aan doorstroomsystemen (cf *Sprague*, 1969). Men heeft dan de mogelijkheid het proefmilieu constant te houden, terwijl tevens afvalstoffen van de proefdieren worden verwijderd. Betrouwbare apparatuur daarvoor is o.a. beschreven door *Mount & Warner* (1965). In het algemeen zal men in het laboratorium streven naar het werken in gedefinieerde omstandigheden en het constant houden daarvan om reproduceerbare en onderling vergelijkbare resultaten te verkrijgen. Dit is echter weinig in overeenstemming met de natuur waar juist fluctuaties van temperatuur, licht, voeding, etc., kenmerkend zijn. Ook zal in de natuur de toxische belasting zelden door één factor alleen bepaald worden. Combinaties van zuurstofgebrek, thermische belasting en toxische verontreiniging zijn bepaald geen uitzondering. Men zou hierin kunnen voorzien door het aanbrenge van cyclische variaties in de proefomstandigheden en het uitvoeren van multifactor experimenten. Het experimentele apparaat wordt dan echter spoedig te groot. Tevens houdt men dan nog geen rekening met het feit dat in de natuur steeds een aantal organismen tegelijk aanwezig zijn die elkaar beïnvloeden. Weliswaar heeft men experimentele ecosystemen voor het laboratorium ontwikkeld (zie b.v. *Coler & Gunner*, 1970 en *Lacaze et al.*, 1970) maar de gebruiksmogelijkheden lijken hiervan vooralsnog beperkt te zijn. Een alternatief is dat men naast laboratoriumproeven veldproeven opzet, waarbij het laboratoriumwerk vooral zal moeten bijdragen tot de analyse van de veel gecompliceerder verhoudingen in de veldproef.

Zowel het constant houden van het toetsmilieu als het bemonsteren van veldproeven brengt mee, dat men zeer geregeld het onderzochte toxicans chemisch zal willen bepalen (cf *Brouwer*, 1970). Gelet op de grote waarschijnlijkheid van accumulatie van sommige toxicantia in de onderzochte dieren, zal men de proeven tevens willen begeleiden met frequente bepaling van het gehalte van het toxicans in de proefdieren. De chemisch-analytische proble-

Tabel 3. Vergelijking van de gevoeligheid van zes vissoorten voor metaalionen

(Comparative sensitivity of six fish species to metal ions)

(Data adapted from Rehwooldt et al., 1971)

Vissoort	Concentratie waarbij 50% sterfte optreedt (LC50) na 48 h in mg/l (= ppm)		
	Cu	Zn	Ni
<i>Fundulus diaphanus</i>	0,9	21	51
<i>Roccus saxatilis</i>	6,2	10	8,4
<i>Lepomis gibbosus</i>	2,9	22	12
<i>Roccus americanus</i>	8,0	10	16
<i>Anguilla rostrata</i>	8,2	20	13
<i>Cyprinus carpio</i>	1,0	9,3	29

matiek hiervan is geen sinecure. Zij zal elders in dit tijdschrift worden uiteengezet. Frekwente waarneming van biologische verschijnselen houdt in, dat men ook frekwent chemische bepalingen zal willen doen om correlaties tussen concentratie van het agens in het milieu, gehalten van het agens in het organisme en biologisch effect te kunnen vinden.

Last but not least krijgen al deze gegevens pas zin, als men ze kan beschouwen in het licht van actuele concentraties en gehalten van het toxicans, zoals deze in het vrije veld voorkomen. Ook omgekeerd krijgen gegevens uit een meetnet, zij het dat deze bestaan uit wateranalyses of bepalingen van gehalten in bepaalde organismen, pas zin als men ze kan interpreteren aan de hand van te verwachten biologische effecten. Tekenend zijn hiervoor b.v. de alarmerende berichten over hoge kwikgehalten aangetroffen in tonijn, welke zonder nader bewijs aan vervuiling worden toegeschreven. Het gehalte van kwik in tonijn blijkt echter van nature reeds hoog te zijn (Peakall & Lovett, 1972, Miller et al., 1972). Experimentele bepaling van de relatie a) concentratie toxisch agens in het water → b) gehalte van

toxisch agens in proefdieren → c) biologisch effect hiervan in het proefdier, kan dan ook veel bijdragen tot een juister inzicht in de gevaren die ons bedreigen door vervuiling met persistente toxicantia. Op grond van bovenstaande overwegingen is in ons laboratorium het volgende toetsysteem voor milieutoxiciteit in waterige systemen geadopteerd (Tabel 4).

De oplettende lezer zal in tabel 4 een aantal belangrijke elementen gemist hebben die in § 2 als essentieel zijn (tabel 1). Het onderzoek van de biodegradabiliteit van toxicantia en de daarmee nauw samenhangende problemen van persistentie en toxisch effect op bacteriën en andere micro-organismen van de „decay chain” is pas sinds kort in studie genomen. Hierover zal later worden gerapporteerd. De *humane toxiciteit* (respectievelijk toxiciteit voor warmbloedige organismen) is een zodanig specialisme en elders reeds zo goed vertegenwoordigd, dat hiervoor geen plaats is ingeruimd.

De studie van aantrekking en afstoting (respectievelijk immigratie en emigratie in ecosystemen) kon (voorlopig) nog niet worden geëntameerd, evenmin als dat van effecten op moleculair niveau (b.v. mutaties) wegens de geboden beperking. Van de overige aspecten van het onderzoek zal in een aantal opeenvolgende artikelen een indruk worden gegeven aan de hand van een studie van koper als milieutoxicans.

4. Koper als milieutoxicans

Een milieutoxicologisch onderzoek, zoals hierboven besproken, is een zeer omvangrijk werk. Men zal zich dus niet alleen in de methodiek, maar ook in de te bewerken onderwerpen beperkingen moeten opleggen om het werk te doen passen bij het potentieel aan mensen, materiaal en kennis, dat men ter beschikking kan stellen. Een beperking in het aantal stoffen of stofgroepen leek het meest voor de hand te liggen.

De huidige milieuproblemen lijken op waterverontreinigingsgebied vooral bij de toxische persistente verbindingen te liggen voor zover het er om gaat fundamentele gegevens te verzamelen. Als zodanig trekken de gechlloreerde koolwaterstoffen en de zware metalen de aandacht. Bij het beoogde toetsysteem zijn frekwente chemische analyses noodzakelijk. In dit opzicht leken de zware metalen meer kansen te bieden op automatisering van de bepalingen. Voor de gechlloreerde koolwaterstoffen is in het algemeen gaschromatografie nodig, waarbij in het bijzonder het voorbereiden van de monsters veel tijdrovend handwerk vereist. De keus viel daarom op de zware metalen. Dit is op zichzelf echter een zeer grote groep, zodat opnieuw een keus was geboden. Uiteindelijk viel de grotendeels arbitraire keus op koper, kwik, lood, cadmium en zink als frekwent genoemde toxische metalen. Het

Tabel 4. Toetsysteem voor milieutoxicologie van waterige systemen

(Test system in environmental toxicology of aqueous systems)

A. Proeforganismen	<p>Vertegenwoordigers uit diverse trofische niveaus</p> <p>a) algen: Chlorella, Clamydomonas, Enteromorpha, e.a.</p> <p>b) crustaceën: Daphnia, Artemia, Gammarus, e.a.</p> <p>c) mollusca: mossel</p> <p>d) vissen: guppy (zoet en zout water), schol, zebravisje, forel</p> <p>Van enkele proeforganismen worden verschillende ontwikkelingsstadia in het onderzoek betrokken.</p>
B. Proefomstandigheden	<p>Laboratoriumproeven bij voorkeur in doorstroomsystemen b.v. volgens Mount & Warner (1965) bij constante temperatuur en belichting.</p> <p>Standaard proefduur: 30 dagen.</p> <p>Constante bemonstering van het toxisch agens in het water en de organismen.</p> <p>Veldproeven in bassins op het wad (Balgzand).</p>
C. Parameters	<p>Mortaliteit (LC 50).</p> <p>Groei (of nettoproductie biomassa).</p> <p>Reproductie (eiproductie, generatiegrootte).</p> <p>Accumulatie toxisch agens = $\frac{\text{gehalte in proeforganisme}}{\text{concentratie in proefmedium}}$</p> <p>Respiratie (bij algen).</p>

onderzoek is gestart met koper en wel om de volgende redenen:

- koper is een bekend zwaar vergif waarvan specifieke werking tegen algen en schimmels verondersteld wordt (cf *Liebmann, 1958, Fitzgerald & Faust 1963*).
- koper wordt veelvuldig gebruikt in de industrie voor velerlei technische doeleinden en in de land- en tuinbouw als bestrijdingsmiddel en toevoeging aan meststoffen;
- een vrij recent geval van acute milieuvergiftiging in zee was bekend (*Roskam, 1966*);
- In plantenmateriaal is een toename van koper sinds 1900 vastgesteld, terwijl planten in industriële omgeving meer koper bevatten, hetgeen op industriële verontreiniging kan wijzen (*Rühling & Tyler, 1969*).
- Analytisch-chemisch leek het mogelijk met vrij klassieke middelen de vereiste hoge gevoeligheid ($\mu\text{g/l}$ in ca. 10 cm^3 monster = ca. 10 ng) op te brengen zonder de kostbare en omstandige neutronenactivering te hulp te roepen.
- Koper is voor vele organismen een essentieel sporenelement (zie b.v. *Merlini et al, 1970*) zodat fysiologisch een ander gedrag te verwachten is dan van primair systeemvreemde metalen als kwik en cadmium.

Enkele jaren geleden werd dan ook besloten nadere gegevens over de milieutoxiciteit van koper te gaan verzamelen. In de volgende serie artikelen zullen voorlopige bevindingen in het laboratorium en in het veld worden weergegeven omlijst door artikelen over produktie en gebruik, voorkomen, analytische chemie, fysische chemie en literatuurgegevens over toxiciteit. Daar de giftigheid voor warmbloedigen inclusief de mens niet verder ter sprake zal komen zal tot slot van onze beschouwing een korte indruk worden gegeven van de reeds lang bekende toxicologie van koper in dit opzicht, ontleend aan *Walsh, 1968, Browning, 1969 en Fairhall, 1969*. Deze beschouwing is alleen indicatief bedoeld.

Koper komt in ons dagelijks voedsel voor in hoeveelheden van 2-5 mg. Het menselijk lichaam bevat totaal ca. 100-150 mg koper. Hiervoor zou een theoretische dagelijkse toevoer van 2 mg nodig zijn, maar een feitelijke deficiëntie is bij de mens niet overtuigend aangetoond. Bij proefdieren en vee is dit daarentegen wel het geval. Koper heeft een hoge affiniteit voor eiwitten en aminozuren, zodat het opgenomen zowel als het voorradige koper voornamelijk complex-gebonden hiermee voorkomt. Koper wordt door de darm geabsorbeerd, het komt in het bloed voor en wordt in de lever geconcentreerd. Van hieruit wordt het weer als caeruloplasmin-koper aan het plasma afgegeven. Koper is voorts bekend als prosthatische groep in enkele enzymen.

Table 5. Acute toxiciteit van enkele metaalzouten
(Acute toxicity of some metal-salts)

Zout	Orale toxiciteit bij proefdieren		dodelijke dosis bij mensen	
	proef-dier	dosis mg/kg lichaamsgewicht LD 50	LD in mg totaal	per kg lichaamsgewicht = $\frac{LD}{70}$
kwik ^{II} chloride = sublimaat	rat	37	200-1000	3-15
cadmium ^{II} sulfaat	hond ¹⁾	27-105	30-50	0,5
cadmium ^{II} chloride	rat	88		
koper ^{II} sulfaat	rat	300	8000 (1000) ²⁾	110 (15)
koper ^{II} chloride	rat	140		
lood ^{II} sulfaat	hond	2000-3000		
lood ^{II} acetaat = loodsuiker	hond	300	5000-30.000	70-400
zink ^{II} sulfaat	rat	2200		
zink ^{II} chloride			3000-5000	40-70

1) subcutaan

2) *Browning* (loc. cit.) vermeldt 650-1000 mg als vermoedelijk fataal. De discrepantie ligt mogelijk aan het braken bij orale dosering. Humane gegevens zijn gewoonlijk weinig exact, daar ze gebaseerd zijn op toevalswaarnemingen.

De functie van koper in het menselijk lichaam is niet geheel duidelijk. Wel is van koperdeficiënte proefdieren bekend, dat zij een ernstige bloedarmoede vertonen, vergelijkbaar met de anemie op grond van ijzer-deficiëntie.

Koper wordt voornamelijk met de gal en voor een gering gedeelte met de urine afgescheiden.

Chronische kopervergiftiging, onder invloed van verhoogde koperconcentraties in zijn milieu is bij de normale mens niet bekend. Wel is een pathologische ophoping van koper in lichaamsweefsels bekend (ziekte van Wilson, hepatolenticulaire degeneratie) welke echter primair berust op een aangeboren defect in de stofwisseling. Zij komt dus ook in een niet verontreinigd milieu, dat altijd een geringe hoeveelheid koper in voedsel en water bevat, voor, maar ze zal wel door hogere koperbelasting verergerd en versneld worden. Een chronische kopervergiftiging komt wel voor in schapen onder invloed van verhoogde toevoer van koper.

Tait et al. (1971) beschrijven een dodelijk verlopen chronische vergiftiging bij een dieet dat 27 µg/g koper bevatte, terwijl 5 µg/g nodig is om deficiëntieverschijnselen te voorkomen en 9 µg/g geen verschijnselen geeft. De marge tussen deficiëntie en toxiciteit is dus zeer gering, hetgeen milieutoxicologisch een belangrijke indicatie is. Kleine schommelingen in de koperbelasting leiden dus bij sommige dieren blijkbaar reeds spoedig tot fatale verschijnselen.

Humaan toxicologisch is dus vooral de acute vergiftiging van belang. Opname van 65-130 mg kopersulfaat is gevaarlijk en 650-1000 mg zeer gif-

tig en mogelijk fataal. Het geeft aanleiding tot braken, diarree, hematurie en krampen. Leverbeschadiging en later nierbeschadiging zijn bekend terwijl ook hemolytische anemie beschreven is. De opname van het koper^{II} wordt door het braken sterk tegengegaan. Koper^{II} werkt corrosief op de ermee in aanraking komende weefsels. De hiermee gepaard gaande verschijnselen zijn niet specifiek voor koper. Metallisch koper is vrijwel ongiftig. Inhalatie van dampen die koperoxide bevatten geeft aanleiding tot een niet specifieke koorts.

Over acute giftigheden kunnen van de eerder genoemde 5 zware metalen vergelijkende cijfers gegeven worden. Ze zijn voor de zoogdier toxiciteit ontleend aan *Spector's Handbook of Toxicology* (1959) en voor de mens aan *Ludewig & Lohs* (1971) (zie tabel 5).

Op grond van de dierexperimenten krijgt men de indruk dat kwik en cadmium giftiger zijn dan koper, dat op zijn beurt weer giftiger is dan lood en zink. De mens lijkt gevoeliger dan de geciteerde proefdieren. Ook uit deze kleine vergelijking blijkt echter reeds de grote variatie in gegevens. Het zal duidelijk zijn dat deze soort toxicologische gegevens niet geëxtrapoleerd kan worden naar fundamenteel verschillende organismen welke van belang zijn voor het beoordelen van milieutoxicologische verschijnselen. Opvallend zijn trouwens de grote hiaten ook bij deze reeds veel langer onderzochte toxiciteit bij warmbloedigen. Speciaal op de behoeften van de milieuwetenschap gericht onderzoek, zowel in gecontroleerde omstandigheden in het laboratorium als in representatief, maar noodzakelijkerwijs grilliger veldwerk, is noodzakelijk.

Literatuur

- Brouwer, W. (1970), De automatische bepaling van het gehalte aan koper in water van de Waddenzee, met behulp van een auto-analyzer. TNO-Nieuws 25, 297-302.
- Browning, E. (1969), Toxicity of industrial metals. 2nd Edition, Butterworths, London.
- Brungs, W. H. (1969), Chronic toxicity of zinc to the fathead minnow (*Pimephales promelas Rafinesque*). Trans. Amer. Fish. Soc. 98 (2), 272-279.
- Coler, R. A. & Gunner, H. B. (1970), Laboratory measure of an ecosystem response to a sustained stress. Applied Microbiology 19 (6), 1009-1012.
- Drogendijk, A. C. (1961), De evolutie van het begrip ziekte. Geneeskundige Bladen 50 (4), 107-151.
- Fairhall, L. T. (1969), Industrial toxicology. 2nd Edition, Hafner Publ. Comp., New York - London.
- Fitzgerald, G. P. & Faust, S. L. (1963), Factors affecting the algicidal and algostatic properties of copper. Applied Microbiology 11, 345-351.
- Hueck, H. J. & Adema, D. M. M. (1968), Toxicological investigations in an artificial ecosystem. Helgoländer Wiss. Meeresunters. 17, 188-199.
- McKim, J. M. & Benoit, D. A. (1970), Effects of long-term exposures to copper on survival, growth and reproduction of Brook trout (*Salvelinus fontinalis*). J. Fisheries Res. Board Can. 28 (5), 655-662.
- Kinne, O. (1968), Internationales Symposium, „Biologische und hydrographische Probleme der Wasserverunreinigung in der Nordsee und angrenzenden Gewässern“. Eröffnungsansprache Helg. Wiss. Meeresunters. 17, 1-5.
- Kuenen, D. J. (1970), Mens en Natuur. Mededelingen Rijksinstituut voor Natuurbeheer No. 2, 1-24.
- Lacaze, J. C., Hallopeau, C. & Voight, M. (1970), Recherches préliminaires en laboratoire sur des écosystèmes saumâtres expérimentaux. Bull. Mus. Nat. Hist. Naturelle, 2^e série 41 (5), 1278-1289.
- Liebmann, H. (1958), Handbuch der Frischwasser und Abwasserbiologie. Band II. R. Oldenbourg, München.
- Lindeman, R. L. (1942), The trophic-dynamic aspects of ecology. Ecology 23, 399-418.
- Ludewig, R. & Lohs, K. (1971), Akute Vergiftungen. 3. Aufl. Gustav Fischer Verlag.

- Merlini, M. et al. (1970), Trends in the concentration of heavy metals in organisms of a mesotrophic lake as determined by activation analysis.
Proc. Symp. Nuclear Techn. in Environm. Poll. Salzburg 1970, edit. AEA. Wenen.
- Miller, G. E. et al. (1972), Mercury concentrations in museum specimens of Tuna and Swordfish.
Science 175 (4026), 1121-1122.
- Mount, D. J. (1968), Chronic toxicity of copper to Fathead Minnows (*Pimephales promelas Rafinesque*).
Water Res. 2, 215-233.
- Mount, D. J. & Warner, R. E. (1965), A serial-dilution apparatus for continuous delivery of various concentrations of materials in water.
Public Health Service, Publication No. 999-WP-23, 1-16.
- Nat. Acad. Sci. (Washington) (1970), Wastes management concepts for the coastal zone.
Report by Committee on Oceanography. Nat. Res. Council and Committee on Ocean Engineering, Nat. Acad. Eng.
- Odum, E. P. (1963), Ecology.
New York, Holt, Rinehart and Winston.
- Patrick, R. J., Cairns, J., Scheier, A. (1968), The relative sensitivity of diatoms, snails and fish to twenty common constituents of industrial wastes.
The Progressive Fish Culturist 20 (3), 137-140.
- Peakall, D. B. & Lovett, R. J. (1972), Mercury: Its occurrence and effects in the ecosystem.
Bioscience 22 (1), 20-25.
- Rehwoldt, R., Bida, G. & Nerrie, B. (1971), Acute toxicity of copper, nickel and zinc ions to some Hudson river fish species.
Bull. Env. Cont. & Toxicol. 6 (5) 445-448.
- Roskam, R. Th. (1966), Kopervergiftiging in zee.
Water, Bodem, Lucht 56, 19-23.
- Rühling, A. & Teyler, G. (1969), Ecology of heavy metals - a regional and historical study.
Bot. Notiser 122, 248-259.
- Södergren, A. (1968), Uptake and accumulation of C¹⁴-DDT by *Chlorella* sp. (Chlorophyceae).
Oikos 19, 126-138.
- „Spector” (1959), Handbook of toxicology.
W. B. Saunders Comp. New York.
- Sprague, J. B., (1969-1971), Measurement of pollutant toxicity to fish;
I Bioassay methods for acute toxicity, Water Res. 3, 793-821.
II Utilizing and applying bioassay results, Water Res. 4, 3-32.
III Sublethal effects and „safe” concentrations, Water Res. 5, 245-266.
- Standard Methods for examination of water and wastewater (1969),
13th Edition. Publ. by Amer. Publ. Health Assoc. Inc., New-York.
- Tait, R. H. et al. (1971), Chronic copper poisoning in feeder lambs.
Canad. Vet. 7, 12 (3), 73-75.
- Walshe, J. M. (1968), Copper: one man's meat is another man's poison.
Proc. Nutrition Soc. 27 (1), 107-112.
- Wolf, P. de (1965), Problemen bij de lozing van afval en afvalwater in zee.
TNO-Nieuws 20, 924-934.
- Zijlstra, K. C. (1966), Waarom lozing van afvalwater in zee?
In: „De afvoer van afvalwater naar zee”.
- Eerste vakantiecursus in behandeling van afvalwater, 14/15 april 1966 te Delft, p. 12-23, Moormans Periodieke Pers, Den Haag.

Toepassingen en gebruik van koper in Nederland

Applications and use of copper in the Netherlands

Drs. H. J. LAGEVEEN-VAN KUIJK

Economisch-Technische Afdeling TNO

Samenvatting

In dit artikel zijn gegevens over koper verzameld, die in hoofdzaak betrekking hebben op het gebruik in Nederland. Wegens de goede corrosiebestendige eigenschappen en de gemakkelijke verwerkbaarheid wordt koper zowel in de industrie als voor huishoudelijke doeleinden veel toegepast. Door het veelvuldig gebruik van koperen buizen bij het transport van water, olie, gas etc. komt naar schatting 100 ton koper per jaar in het milieu terecht. Voorts wordt door de galvanische en elektrotechnische industrieën jaarlijks ongeveer 500 ton koper in de vorm van zouten in het afvalwater geloosd.

In de landbouw is er voor koper als bestrijdingsmiddel in de aardappel- en fruitteelt vrijwel geen afzet meer, daar de koperhoudende middelen steeds meer zijn vervangen door organische verbindingen v.n.l. de dithiocarbamaten. Op koperarme gronden wordt koper vooral in de vorm van koperslakkenbloem als meststof benut. Van veel belang is het toevoegen van kopersulfaat (in 1970 \pm 3000 ton) aan de mengvoeders van vooral slachtvarkens en pluimvee ter bevordering van de groei. De grote hoeveelheden koperhoudende meststoffen, afkomstig van de 10 miljoen slachtvarkens per jaar geven dan ook problemen (plaatselijk hoge concentraties in verband met de hoge vervoerskosten bij verspreiding).

In praktisch alle voedingsmiddelen blijkt koper voor te komen. Het gemiddelde gehalte van de voornaamste menselijke voedingsmiddelen is 3,1 mgr. koper per kg.

Summary

This article reviews some facts about copper that are largely based on situations in the Netherlands.

As the corrosion resistance of copper is fairly high, this metal is often used for domestic purposes and in industry. It is estimated that in the Netherlands through copper tubes for the transport of water, oil, gas etc. an aggregate quantity of about 100 tons of copper is yearly added to surface waters, and that the galvanoplastic and electrical engineering works every year drain off the equivalent of some 500 tons of copper as salts in waste water.

In agriculture, copper is nowadays hardly used as a fungicide for potatoes and fruit; it is more and more replaced by organic compounds, mainly dithiocarbamates. There is still some use for copper-containing compounds, mostly furnace slags as fertilisers in soils with a low copper content. An interesting feature is the addition of copper sulphate (in 1970 about 3000 tons) to the feeds of especially pigs and chickens.

There are reasons to believe that the distribution of big quantities of copper-containing dung, originating from about 10 million pigs that are kept for slaughter every year, may cause difficulties (locally high concentrations in connection with high costs of transportation for distribution).

Noting that in almost every type of human food some copper will occur, the article specifies that on average 3.1 mg. of copper is contained in 1 kg of man's major food-stuffs.

1. De geschiedenis van het koper

De geschiedenis van het koper gaat waarschijnlijk terug tot vóór de Grieks-Romeinse tijd; mogelijk dateert het gebruik van koper als metaal van vóór 4500 v. Chr. Daar koper tot de metalen behoort die als zodanig in de natuur voorkomen, dus niet chemisch gebonden, en door hameren voldoende hard is te maken kon het worden gebruikt als wapen en gereedschap. Zeer oude koperen voorwerpen zijn gevonden in de graven van Fayum in Egypte daterend van meer dan 4500 v. Chr.

In een volgend tijdperk werd het gevonden metaal gesmolten en in de vorm gegoten; dit was omstreeks 3500 v. Chr.

In het derde stadium werd het metaal gesmolten uit zijn ertsen, waarbij ook de eerste bronslegeringen ontstonden. Het gebruik van brons bleef eerst beperkt tot die streken waar tinertsen aanwezig waren. De gietstukken van de Sumeriërs uit \pm 3100 v. Chr. tonen nog een wisselend vakman-

schap; de Egyptenaren en later ook de Grieken echter bereikten een bijzondere vaardigheid in het gieten.

De meeste oude Griekse standbeelden zijn massief, maar de oude Egyptische beelden zijn hol gegoten met een zandkern die men in veel gevallen liet zitten.

Was het gebruik van koper omstreeks 3000 v. Chr. in het nabije Oosten en later ook bij de Chinezen (bronzen spiegels) reeds vrij algemeen bekend, door de Romeinen nam de toepassing van koper en brons aanzienlijk toe, niet alleen voor wapens en kunstvoorwerpen, architecturaal en huishoudelijk gebruik, maar ook voor chirurgische instrumenten en kunstledematen. Tot 269 v. Chr. waren bij de Romeinen uitsluitend koperen en bronzen munten in omloop, waarvan de oudste niet geslagen maar gegoten werden. Tijdens de regering van keizer Augustus bij het begin van onze jaartelling werden ook messing munten (met 17% zink) vervaardigd.

De Romeinen pasten koper al toe als dakbedekking, dat echter door de hoge blijvende materiaalwaarde verloren ging, daar het in oorlogen gebruikt werd in wapentuig.

Na de val van het Romeinse rijk trad er een zekere stilstand op in de ontwikkeling van de metaalkunde. In de Middeleeuwen ontwikkelde zich de giettechniek verder, vooral die van het klokkengieten. In 1331 werden door de Duitsers de eerste koperen kanonnen gebruikt, terwijl in Engeland in 1385 de eerste messing kanonnen werden gegoten. In de 16e eeuw begint de koper- en messingindustrie in Engeland zich te ontplooiën. In 1568 verkregen twee grote koperproducenten in Engeland rechtspersoonlijkheid, de Mines Royal en de Mineral and Battery Works. De Battery Works kreeg het monopolie voor de winning van zinkerts en voor de fabricage van messing, verder werd er draad getrokken en door pletten (battery) plaat geproduceerd.

In Falun in Zweden is sinds de 13e eeuw een kopermijn in werking welke nog onder controle staat van de afstammelingen van de oorspronkelijke eigenaren.

De koper- en messingindustrie van Engeland werd de grootste en belangrijkste van de wereld, waarbij in de 18e eeuw de aanzienlijke technische vooruitgang kwam. In 1769 werd een methode gepatenteerd voor het persen van voorwerpen tussen een matrijs en stempel. Hierdoor werd voor het eerst massafabricage van pannen, ketels, knopen e.d. mogelijk. Aan het einde van de 18e eeuw werd bijna de gehele wereldproductie van koper te Swansea gesmolten. Hiervan was 75% afkomstig uit Engelse mijnen vnl. te Cornwall.

Na de ontwikkeling van de ertswinning in Chili, omstreeks 1830, gevolgd door die in Australië en Noord-Amerika, begon de verwerking van de erts in de nabijheid van de vindplaatsen. In de tweede helft van de 19e eeuw was Swansea niet langer het centrum van de wereldproductie, deze positie werd langzamerhand door de Ver. Staten overgenomen.

Door de uitvinding van de stoommachine en de beginnende industrialisatie ontstonden geheel nieuwe afzetgebieden voor koperprodukten zoals: messingcilinders voor machines en pompen, appendages en speciale legeringen voor kleppen en kranen. Ook vond koper — of zijn legeringen — toepassing als waterleidingpijp en sanitair.

Van heel groot belang is de toeneming van het koperverbruik door de ontwikkeling van de elektrotechnische industrie in de 19e eeuw. De eerste toepassing van koper was als platen in batterijen van Volta. In 1809 werd in het Royal Institute een batterij geïnstalleerd met 2000 paar koper- en zinkplaten die een gezamenlijk oppervlak van bijna 100 vierkante meter hadden. Hierdoor kwamen de excellente eigenschappen van koper als geleidingsma-

teriaal naar voren en begon de toepassing van koper als bliksemafleiders en voor telegraaflijnen.

De toename in produktie en verbruik in de 20e eeuw is enorm. In de jaren 1900 tot 1910 bedroeg de gemiddelde jaarproduktie 600.000 ton. In 1961 was de produktie van nieuwkoper \pm 4.100.000 ton, terwijl deze in 1969 tot 6.320.000 ton was gestegen.

Koper is een moeilijk vervangbaar metaal dat in onze communicatiesystemen, in elektrische krachtstations, in schepen, vliegtuigen, huizen een belangrijke rol speelt. Ook voor kunstuitingen als monumenten en ter bescherming van schepen en huizen in de vorm van pigmenten voor verven wordt koper veelvuldig gebruikt.

Een groot gedeelte van het afvalkoper afkomstig van bijvoorbeeld sloopauto's, oude kabels, draad, pijp, etc. wordt weer opnieuw verwerkt. In de Verenigde Staten bedroeg de uit afval teruggewonnen hoeveelheid koper in de jaren 1951-1956 al 60% van het in die tijd uit erts geproduceerde nieuwe koper. Van de totale koperconsumptie is nu 55% afkomstig uit erts, terwijl de rest uit afvalkoper wordt teruggewonnen.

Volgens het rapport „Limits of growth” (Meadows) is koper een van de metalen waarvan uitputting in de naaste toekomst moet worden gevreesd. In een recent artikel van Maddox wordt nog gesteld dat door het schaarser worden de prijs van koper zodanig zal stijgen, dat het terugwinnen nog veel belangrijker zal worden dan het reeds was terwijl het alleen in essentiële gevallen zal worden toegepast. Uit een oogpunt van milieubelasting zou dit dus een gunstige ontwikkeling zijn.

2. Het gebruik van koper

2.1. Toepassingen van koper in verband met de eigenschappen van het metaal

2.1.1. Inleiding

Koper is in het algemeen een goed corrosiebestendig metaal, hetgeen blijkt uit het in de natuur aanwezig zijn van aanzienlijke hoeveelheden van het vrije metaal en de nog in gave toestand verkerende, duizenden jaren oude voorwerpen van koper en brons.

In de eerste wereldoorlog werd door medici ontdekt dat verwondingen door projectielen, die met koper waren bedekt, minder infectie veroorzaakten dan andere verwondingen. Hierdoor werd de aandacht gevestigd op de sterk desinfecterende werking van koper.

De toxiciteitsgrens van metallisch koper ligt in vergelijking met andere zware metalen relatief hoog, wat betekent dat koper in deze vorm weinig giftig is en zonder schade door de mensen kan worden benut als gebruiks- en kunstvoorwerpen, munten etc. Omzettingsprodukten van koper (bijv. kopergroen) staan echter in een kwade reuk.

Doordat bacteriën, schimmels en algen al door heel lage concentraties worden gedood, worden koperverbindingen gebruikt als fungicide, algicide, bactericide en als conserveringsmiddel voor hout. Ook als anti-fouling verf op schepen wordt koper toegepast. De anti-fouling verf wordt langzaam uitgeloozd, waardoor het koper in het zeewater terecht komt, en de schepen vrijwel elk jaar opnieuw moeten worden geleverd. Berekend is dat de hoeveelheid koper die op deze wijze in de Noordzee vrijkomt, 30-60 ton per jaar bedraagt, wat neerkomt op 0,001 ppb. In vergelijking met de natuurlijke hoeveelheid koper van het Noordzeewater die 4 ppb bedraagt, is deze hoeveelheid gelukkig van niet veel betekenis.

Hogere levende wezens kunnen niet leven zonder een geringe hoeveelheid koper-ionen. Zo wordt, voor versnelde groei, koper aan het voedsel van varkens, kippen etc. toegevoegd (zie koper in de landbouw).

2.1.2. Industrieel gebruik

a. Een van de voornaamste eigenschappen van koper voor de industrie is het hoge elektrische geleidingsvermogen. Hierdoor wordt ongeveer 50% van de koperproduktie om deze eigenschap verwerkt in de elektronische industrie. Hoofdzakelijk in de vorm van draad wordt koper gebruikt in sterkstroom- en zwakstroomleidingen, motor- en generatorwindingen, in alle moderne communicatiemiddelen, in raketten, maar ook in zeer gevoelige instrumenten op bijv. medisch gebied.

b. Koper vormt met andere metalen gemakkelijk legeringen waardoor speciale eigenschappen worden verkregen. Ongeveer 30% van de koperproduktie wordt dan ook in legeringen waarvan messing de voornaamste is, verwerkt.

c. Verder heeft koper een hoog warmtegeleidingsvermogen, goede corrosiebestendigheid en is gemakkelijk te verwerken waardoor ongeveer 20% van de koperproduktie om deze eigenschappen wordt benut. Een van de belangrijkste toepassingen in deze categorie is in de vorm van koperen pijpen die als waterleidingbuizen, en in de koel- en verwarmingstechniek zeer veel worden gebruikt. Koperplaat wordt veel toegepast in de apparatenbouw. Staf- en profielkoper worden gebruikt voor de vervaardiging van onderdelen van machines.

d. Koper wordt op staal als tussenlaag aangebracht voor het galvanisch vernikkelen en verchromen. De grootste toepassingen zijn de onderdelen van auto's, fietsen, meubelen etc.

De galvanotechnische industrie gebruikt hiervoor in hoofdzaak kopercyanidebaden, terwijl de zure kopersulfaatbaden voor het verkoperen in de galvanoplastiek o.a. voor de samenstelling van gedrukte bedradingen worden gebruikt. Bij het galvaniseren van zink, aluminium en magnesium is koper

ook als tussenlaag nodig, waarbij zowel cyanide- als pyrofosfaatbaden kunnen worden toegepast. Bij het spoelen van de voorwerpen komen de resten van de koperzoutoplossingen in het spoelwater, dat gewoonlijk met eventueel afgewerkte vloeistoffen van de procesbaden op de omliggende wateren wordt geloosd. Het Metaal Instituut TNO schat dat op deze wijze ongeveer 200 ton koper per jaar in de Nederlandse wateren terecht komt.

e. In de elektronische industrie worden gedrukte bedradingen geëtt, ook bij halffabrikaten, bijv. het produceren van lampvoetjes, wordt het koper en messing geëtt. Hierbij wordt een beetje koper opgelost en komt als koperzout (kopersulfaat) in de beitsbaden. De afgewerkte beitsbaden worden meestal op het aan de fabriek grenzende water geloosd, waarbij de concentraties uiteen kunnen lopen van 0,05-5 gr per liter. Het Metaal Instituut TNO schat dat op deze wijze circa 300 ton koper per jaar in de Nederlandse wateren terecht komt. Door elektrolyse van de afgewerkte beitsbaden kan het koper aan de kathode worden teruggewonnen en het zwavelzuur worden geregenereerd. Wanneer de beitsbaden op deze wijze worden behandeld, is het mogelijk de hoeveelheid koperzouten, die worden geloosd, verder te beperken.

Naarmate de prijs van het koper stijgt, zullen de bedrijven er eerder toe besluiten zoveel mogelijk koper terug te winnen en daarbij ook het milieu minder belasten.

Speciaal op het gebruik van koper in corrosief milieu zullen we nog wat nader ingaan.

2.1.3. De toepassing van koper in corrosief milieu

Zoals reeds is opgemerkt is koper een goed corrosiebestendig metaal.

Uit jarenlange praktijkervaringen is gebleken, dat koper of koperlegeringen gebruikt kunnen worden voor de volgende doeleinden:

a. Aan de lucht blootgestelde voorwerpen en constructies. In zuiver droge lucht wordt koper slechts zeer langzaam dof en iets donkerder van kleur, door de vorming van een dun laagje van het rode koperoxyduul (Cu_2O). In normale, dus vocht- en CO_2 -bevattende lucht, vormt zich na enige tijd een groen laagje basisch kopercarbonaat $\text{Cu}_2(\text{OH})_2\text{CO}_3$ (bijv. groene koperen dakbedekkingen) dat het onderliggende metaal beschermt tegen verdere aantasting.

De koperen draden van hoogspanningsleidingen kunnen vooral worden aangetast wanneer zij door een gebied lopen waar de lucht verontreinigd is met o.a. stikstofoxyden en zwaveloxyden. Wanneer het regent lossen de ontstane koperzouten op, het water komt op de onder de hoogspanningsleidingen gelegen grond terecht, waardoor het kopergehalte van de grond en van het erop groeiende gewas stijgt. Zo is in het Westen van het land op percelen grond

juist onder deze leidingen, een (in salpeterzuur oplosbaar) kopergehalte gemeten van 70-80 mgr per kg luchtdroge grond. (Bedrijfslab. voor Grond en Gewasonderzoek). Schapen, die graasden op deze zich juist in de lengterichting uitstrekkende percelen grond onder die leidingen, zijn ziek geworden en nu vervangen door koeien waarvan regelmatig het kopergehalte van het bloed wordt gecontroleerd (zie 4. Koper in de landbouw).

Er is wel geconstateerd dat de draden in het Westen van het land sterker worden aangetast dan in het Midden en Oosten, maar het is niet mogelijk geweest een vermindering in doorsnede te meten, te meer daar de draden door het hangen iets dunner worden. Geschat wordt dat de afname in gewicht van de leidingen hoogstens enkele tonnen koper per jaar kan zijn.

Bij het aanleggen van nieuwe hoogspanningsleidingen wordt nu meestal gebruik gemaakt van staal-aluminium draad, zodat in de toekomst het onderzoek zich moet richten op aluminiumverbindingen die met het regenwater neerkomen.

De bovenleidingen van de spoorwegen zijn ook van koper en de totale slijtage van het gehele geëlektrificeerde traject in Nederland wordt door de NS geschat op 2,2 ton koper per jaar.

b. Transport van drink- en industriewater, gas, oliën, benzine etc.

Voor het installeren van drinkwaterleidingen, warmwaterleidingen en gasleidingen voor openbare voorzieningen gelden algemene en speciale voorschriften. In de waterleidingbuizen vormt zich afhankelijk van de samenstelling van het water na korte of langere tijd een beschermend laagje (zie het hiernavolgende hoofdstuk: Koper in het gebruikswater)

De aanleg van koperen pijpleidingen in de chemische industrie, koelindustrie, airconditioningsinstallaties etc., eisen meestal speciale voorzieningen voor bescherming van de pijpen.

Voor het transport van melk worden inwendig vertinde koperen pijpen gebruikt. In het algemeen worden koperen pijpleidingen in de Nederlandse bodem zeer weinig aangetast. Alleen in moerasgrond, veengrond en slecht drainerende gronden met hoog sulfaat- en chloridegehalte kunnen onbeschermd leidingen min of meer ernstig worden aangetast. In deze grondsoorten moeten de pijpen worden beschermd door ze te behandelen met bitume.

Galvanische corrosie van koperen leidingen komt weinig voor, alleen wel in gronden die sintels, koolas of andere koolstof bevatten.

In de nabijheid van open riolen en mestputten zijn koperen pijpen niet bruikbaar tenzij de pijpen worden gecoat en in afzonderlijke kanalen gelegd.

c. In de chemische en voedingsmiddelenindustrie, zowel voor apparatuur als voor transportleidingen en opslag.

Om de relatief lage prijs, het hoge warmtegeleidingsvermogen en de gemakkelijke verwerkbaarheid wordt bij voorkeur zuiver koper gebruikt. Zo wordt koper in de volgende takken van industrie toegepast.

De Alcoholdestilleerderijen	destilleerketels, condensors, warmtewisselaars, pijpverbindingen
Bierbrouwerijen	kookketels, tanks en pijpleidingen, verwarmingsspiralen en vacuüm kookketels
Jam- en vruchtensappen-fabricage	
Suikerindustrie	
Oliën, vetten en zeepindustrie	
Zuivelindustrie	vertind koper voor pasteuriseren, steriliseren, koelen en bewaren van melk.
Textielindustrie	droogcilinders en cilinders voor het bedrukken van weefsels.
vernis en harsindustrie	kookketels voor lijnolie en vernis, destilleerketels en condensors voor vluchtige oliën.

Koperen pijpleidingen in fabrieken waarin de atmosfeer kan zijn verontreinigd door zuren, ammoniak of zwavelwaterstof, moeten worden beschermd door speciale verven of door een kunststofmantel. Koperen apparaten en leidingen hebben, mits op de juiste wijze en plaats gebruikt, een lange levensduur. Een schatting te maken van het jaarlijkse koperverlies is dan ook zeer moeilijk. Alleen van waterleidingbuizen is hierover iets bekend. Wanneer er per jaar 10.000 ton koper voor bovenstaande doeleinden wordt aangewend en er een verlies van 5 à 10% optreedt in een gebruikperiode van bv. 25 jaar komt er jaarlijks 20 à 40 ton koper in het milieu. Speciaal van de waterleidingbuizen wordt hier nog \pm 50 ton koper per jaar aan toegevoegd (zie volgend hoofdstuk).

3. Koper in het gebruikswater

In Nederland waar bijna alle huizen van waterleiding zijn voorzien, wordt het water door 120 waterleidingbedrijven geleverd.

In 1950 werd gezamenlijk 409 miljoen m³ water geleverd, welke hoeveelheid in 1970 ruimschoots was verdubbeld nl. tot 872 miljoen m³.

Het geleverde water was afkomstig uit:

oppervlaktewater 310 milj. m³; hiervan werd 114 milj. m³ in de duinen geïnfiltreerd
grondwater 500 milj. m³ en
duinwater 161 milj. m³.

Naast de afname van water van de waterleidingbedrijven wint de industrie zelf naar schatting nog 500 miljoen m³ grondwater en 200 miljoen m³ oppervlaktewater, uitgezonderd het voor koeling gebruikte oppervlaktewater.

In totaal werd in 1970 ten behoeve van bevolking en industrie meer dan 1000 miljoen m³ grond- en 500 miljoen m³ oppervlaktewater gewonnen.

Het kopergehalte van *oppervlaktewater* uit de Lek is na verwijderen van het slib ongeveer 0,02 mgr per liter. Wanneer dit water in de duinen van Noord- en Zuid-Holland wordt geïnfiltrerd, bedraagt het kopergehalte van het duinwater na filtratie en beluchting, klaar voor gebruik 0,014 à 0,015 mgr Cu. per liter. Het Lekwater heeft in 1970 in de duinen dus ruim 600 kg koper achtergelaten. Aan de Rijn wordt ongeveer 500 miljoen m³ oppervlaktewater onttrokken, waarin ± 10 ton koper aanwezig is. Gezien de totale aanvoer van koper door de Rijn die in 1969, 1750 ton bedroeg en in 1970 hoger lag nl. 2900 ton, is dit dus slechts een klein deel hiervan.

Het kopergehalte van het *grondwater* is zeer laag. Gedurende de periode 1963-1971 zijn door het Rijksinstituut voor de Volksgezondheid kopergehalten gevonden die steeds lager waren dan 5 µgr per liter. In de totale hoeveelheid grondwater van 1000 miljoen m³ die in 1970 werd verbruikt was dus oorspronkelijk hoogstens 5 ton koper aanwezig.

Wordt het grondwater door koperen putfilters geleid dan kan het kopergehalte iets stijgen, afhankelijk van de kwaliteit (hardheid) van het grondwater en het voor de filters gebruikte materiaal.

In het algemeen kunnen we dus zeggen dat het water vóór distributie een laag kopergehalte heeft. De distributie heeft plaats via het hoofdnet, dat uit buizen van gietijzer, beton of asbestcement bestaat, naar de dienstleidingen.

Deze dienstleidingen die van het hoofdnet naar de huizen lopen, bestonden vóór 1963 voor 50% uit lood, 20% was van koper, 23% van PVC en 7% van staal. Na 1963 wordt er geen lood meer gebruikt voor het leggen van dienstleidingen, zodat in 1969 het percentage loden leidingen was teruggelopen tot 43% en het percentage plastic leidingen was gestegen tot 38%, terwijl er 11% van de technische leidingen uit koper bestond. In 1969 bedroeg het totale aantal aansluitingen 3,27 miljoen, waarvan dus 360.000 van koper met een gemiddelde lengte van ± 15 meter.

Na de dienstleiding komt de watermeter en daarachter de binnenleidingen, die buiten de verantwoordelijkheid van de waterleidingmaatschappijen vallen. Deze binnenleidingen werden tot 1930 meestal in lood of staal uitgevoerd. In 1934 verscheen het rapport inzake de toepassing van koperen buizen voor waterleidingdoeleinden, uitgebracht door de koperen-buizen-commissie, waaraan uitgebreide onderzoeken vooraf waren gegaan. Sindsdien is het aantal binnenleidingen van koper steeds toegenomen:

in 1945 was 75% van de nieuw gelegde binnenleidingen van koper en in 1969 was ruim 98% van de nieuw gelegde binnenleidingen van koper.

Alleen in oude huizen worden nog steeds loden leidingen aangetroffen, terwijl stalen leidingen door

de grote roestvorming niet zo'n lange levensduur hadden en dus praktisch alle vervangen zijn.

In de nieuwe koperen leidingen wordt in de eerste tijd koper opgelost tot zich een beschermende laag basisch kopercarbonaat heeft gevormd. Hiervoor moet het water een zekere hardheid bezitten, daar anders deze beschermende laag niet kan ontstaan. In enkele plaatsen in ons land o.a. op de Veluwe, in Limburg en Drente, waar het water een hoog zuurstofgehalte en een laag bicarbonaatgehalte heeft, is corrosie van de koperen leidingen opgetreden en wel in zo sterke mate dat er gaten in de leidingen ontstonden. Door verlaging van het zuurstofgehalte en verhoging van de tijdelijke hardheid tot 3°D door de waterleidingbedrijven kan het water dan minder agressief worden gemaakt, waardoor de beschermende laag zich kan vormen.

Verder zijn er door het KIWA eisen opgesteld waaraan de koperen buizen moeten voldoen, terwijl ook het solderen van de buizen met bijzondere zorg moet geschieden. Het is nl. gebleken dat schone fosforgesoxideerde buizen niet worden aangetaast.

Als eis voor het kopergehalte van het drinkwater heeft de koperen-buizen-commissie in 1934 het volgende geformuleerd.

De hoeveelheid koper in water, afkomstig uit een leiding die tenminste drie maanden in gebruik is, mag niet meer bedragen dan: 3 mgr Cu per liter voor water, dat 16 uren in de desbetreffende leiding heeft gestaan.

De European Standards for drinking water vermeldt dezelfde eis, terwijl bij doorstromen niet meer dan 0,05 mgr Cu per liter aanwezig mag zijn.

De International Standards van de Wereld Gezondheidsorganisatie heeft in 1971 bepaald dat het wenselijk is, dat bij stromend water het kopergehalte niet hoger is dan 0,05 mgr Cu per liter maar dat maximaal 1,5 mgr Cu per liter toelaatbaar is. Dit laatste mede in verband met de smaakbezwaren die bij ± 2 mgr Cu per liter water opkomen.

In ons land is het kopergehalte van het drinkwater zeer laag, alleen bij stilstaan van het water in nieuwe leidingen zal het kopergehalte tot 2 à 3 mgr Cu per liter kunnen stijgen. Deze situatie is van tijdelijke aard omdat na een paar maanden een evenwichtstoestand ontstaat en de leidingen worden voorzien van een beschermende laag, (meestal basisch kopercarbonaat) en er dan slechts incidenteel nog wel eens een vlokje van dit basisch kopercarbonaat kan loslaten.

De verliezen aan koper van nieuwe leidingen, kunnen volgens het KIWA tot 0,05 mm van de wanddikte bedragen. Daar er de laatste jaren gemiddeld 125.000 nieuwe woningen per jaar in gebruik worden genomen, en de gemiddelde lengte van een binnenleiding 20 meter in doorsnede 15 x 13 mm is, kunnen we heel globaal zeggen dat er ongeveer 50

ton koper per jaar van waterleidingbuizen in het afvalwater terecht komt.

Vermeldenswaard is nog dat de hoeveelheid water die per persoon gemiddeld per dag wordt gedronken op 1 liter wordt geschat. In Nederland wordt per jaar dan 5 miljoen m³ water geconsumeerd, wat gezien het totale verbruik van 1500 miljoen m³, zeer weinig is.

Wanneer het koper uit het water door de mens wordt opgenomen is dit bij een gemiddeld kopergehalte van 0,05 mgr per liter, voor de gehele Nederlandse bevolking 250 kg koper per jaar.

4. Koperverbindingen in de landbouw

4.1. Koper in meststof

Koperverbindingen zijn in kleine hoeveelheden onmisbaar voor het leven van plant en dier. In groene bladeren is koper aanwezig omdat het een essentiële rol speelt bij de fotosynthese en het is een onmisbare factor bij de vorming van rode bloedlichaampjes in het beenmerg van zoogdieren en vogels. De planten nemen het koper uit de grond op als ion of in oplosbare vorm, waarbij de minimum vereiste hoeveelheid voor de groei van de meeste planten 4 mgr Cu per kg luchtdroge grond bedraagt.

Op de dalgronden van Drente en Zuidoost Groningen, maar ook in Duitsland, Denemarken en Zuid-Zweden is het kopergehalte lager. Dit is veroorzaakt door de uitlogende werking van het langzaam smeltende ijs uit de ijstijd. Door onderzoek werd in de jaren twintig ontdekt dat kopergebrek oorzaak was van de vooral in Hooghalen (Drente) voorkomende slechte toestand van het vee, slechte huid, haaruitval (de „Hooghalense ziekte”).

Niet alleen in Europa, maar ook in andere delen van de wereld (bijv. Australië, India, Japan en in de USA) is nu bekend, dat o.a. gebrek aan koper oorzaak is van slechte groei van verschillende landbouwgewassen.

In Nederland is volgens de Afdeling Bodem en Bemesting van het Rijkslandbouwconsulentschap een kopergehalte (HNO₃ oplosbaar) dat hoger ligt dan 4 mgr per kg luchtdroge grond, voldoende voor de teelt van haver en tarwe, terwijl minstens 5 mgr/kg nodig is voor grasland.

Zijn de kopergehaltenes lager, dan moet het land worden bemest met kopersulfaat of met koperslakkenbloem (een afvalprodukt bij de winning van koper uit erts). Hiervoor is het volgende schema opgesteld (zie tabel 1)

Wanneer bemesting heeft plaats gehad, is dit voldoende voor een tijd van 5-8 jaar.

Met het groeien van de wetenschap op landbouwgebied is het gebruik van koper als meststof om het tekort te corrigeren, overal in de wereld toegevoerd. Zo gebruikt Denemarken 750 ton, Nieuw-Zeeland 600 ton aan Cu als meststof. Nederland,

tabel 1

Koper op zandbouwland, afgestemd op haver en tarwe

Waardering	Koper in mgr per kg luchtdroge grond	bemesting in kg per ha	
		CuSO ₄	koperslakkenbloem
te laag	<3	25	400
vrij laag	3 - 4	10	150
goed	>4	0	0

Grasland op alle grondsoorten

Waardering	Koper in mgr per kg luchtdroge grond	bemesting in kg per ha	
		CuSO ₄	koperslakkenbloem
te laag	<2	25	400
vrij laag	2 - 5	15	250
goed	>5	0	0

Oost- en West-Duitsland gebruiken vooral veel koperslakkenbloem.

De in Nederland gebruikte kopermeststoffen bestaan voor 75% uit koperslakkenbloem (Cu-geh. 1,5%) en voor 23% uit fosfor-natrium meststof (Cu-geh. 0,5%). In de periode 1 juli 1970 - 30 juni 1971 werd in totaal 202,2 ton Cu in de verschillende meststoffen verwerkt.

Van de bovengenoemde totale hoeveelheid als Cu berekende meststof van 202,2 ton, was 50,9 ton Cu als CuSO₄ ingevoerd. Het grootste deel hiervan n.l. 47,1 ton als Cu berekend werd in de fosfor-natrium meststof verwerkt, waaruit blijkt dat kopersulfaat als zodanig vrijwel niet meer als meststof wordt gebruikt.

Het gebruik van koperslakkenbloem bedroeg in de jaren

	1965-'66	1966-'67	1967-'68	1968-'69	1969-'70	1970-'71
× 1000 kg	21667	13283	15300	15500	14160	10067

4.2. Koperhoudende bestrijdingsmiddelen

Het is ongeveer honderd jaar geleden dat Millardet ontdekte dat koperzouten konden worden gebruikt bij de bestrijding van meeldauw in de wijngaarden. In ons land zijn de koperverbindingen vooral in de jaren dertig veel gebruikt als fungiciden bij de aardappelteelt. Het gewas werd gedurende de groeitijd 3 tot 6 maal bespoten met 7-10 kg bestrijdingsmiddel per ha, meestal koperoxychloride.

Hoewel koperzouten ook als fungiciden in de fruitteelt werden gebruikt, werd toch het grootste deel, namelijk ongeveer 95%, in de aardappelteelt toegepast. In de laatste jaren vóór de tweede Wereldoorlog was het verbruik in de landbouw als koper uitgedrukt ongeveer 800 ton.

Een bezwaar van het gebruik van koperverbindingen is, dat er bladbeschadiging kan optreden waardoor oogstreductie volgt. Gedurende de laatste 10 jaar zijn de koperfungiciden steeds meer vervangen door andere meest organische verbindingen zoals de dithiocarbamaten waarbij Maneb sterk op de voorgrond trad.

Koperzouten worden nu in de aardappel- en fruitteelt praktisch niet meer gebruikt behalve nog enigszins bij de perenteelt.

In de lijst van Toegelaten Bestrijdingsmiddelen van 1971 van het Ministerie van Landbouw en Visserij waarin er \pm 4500 zijn vermeld, komen nog tien bestrijdingsmiddelen voor, die koperoxychloride bevatten.

In hoofdzaak heeft toepassing van koperverbindingen nog plaats door particulieren als fungicide/insekticide en b.v. in pasta's met 3,5% koperoxychloride als wondafdekmiddel bij het snoeien van bomen.

Een schatting van het recente gebruik lijkt niet meer dan enkele tonnen te bedragen. Daar bovendien uit de handelsstatistiek (CBS) blijkt dat zelfs meer koper in fungiciden wordt uitgevoerd dan ingevoerd is deze geringe hoeveelheid koper wat milieubelasting betreft, vrijwel verwaarloosbaar.

4.3. Koper in mengvoeders

Er is reeds opgemerkt dat koper nodig is voor de gezondheid en de groei van dieren en groene planten. Voor volwassen dieren bedragen de dagelijkse hoeveelheden als koper uitgedrukt

voor koeien	50 - 70 mgr
voor paarden	50 - 60 mgr
voor varkens	10 - 20 mgr
voor schapen	10 - 15 mgr

Daar dit minimum hoeveelheden voor volwassen dieren zijn, liggen de hoeveelheden voor jonge dieren in de groeiperiode hoger. Volgens een mededeling van het Instituut voor Biologisch en Scheikundig onderzoek van Landbouwgewassen zijn schapen erg gevoelig voor te veel koper; zij kunnen al in enkele weken een chronische vergiftiging oplopen bij slechts \pm 15 mgr koper per dag. Er is geconstateerd dat schapen ziek werden, wanneer ze langere tijd het gras aten dat onder koperen hoogspanningsleidingen groeide. Doordat het regenwater dat via de leidingen op het gras en de grond viel, veel koper bevatte, kregen ook de schapen op deze wijze te veel koper naar binnen.

Varkens zijn niet zo kieskeurig en groeien juist veel harder bij toevoeging van koper aan hun voedsel. In de Verenigde Staten en W-Duitsland wordt een dieet dat 200-250 mgr koper per kg droog voer bevat, gegeven, waarbij 8-10% meergroei optreedt. In Nederland zou 150-200 mgr Cu per kg voer worden toegevoegd.

In de laatste jaren zijn er bijna 10 miljoen mestvarkens in Nederland per jaar geslacht. In totaal is in 1970/71 3,85 miljoen ton mengvoeder voor varkens geproduceerd waarin ongeveer 2500 ton CuSO_4 is verwerkt.

In Nederland wordt vooral kopersulfaat verwerkt in het mengvoeder, maar in andere landen wordt ook wel kopercarbonaat en koperoxyde toege-

voegd; dit laatste wordt vooral in België warm aanbevolen.

In Nederland is de laatste jaren 150.000 ton mineralenmengsel geproduceerd, dat 0,15% CuSO_4 bevat en in hoeveelheden van 2-4% aan het mengvoeder voor rundvee, pluimvee en paarden wordt toegevoegd. Voor varkens kan het kopersulfaatgehalte oplopen van 0,3% tot 4% (dit laatste percentage voor mestvarkens).

Van het mineralenmengsel wordt ca. 1,5% aan het mengvoeder voor varkens toegevoegd.

In totaal wordt in het mineralenmengsel ongeveer 250 ton kopersulfaat per jaar verwerkt.

Verder wordt er speciaal aan rundvee als bijvoeder nog mineralenkoek gevoerd; deze koek bevat ongeveer 100 mgr koper per kg.

Voor mestkuikens heeft toevoeging van koper aan het voer een gunstige werking op de groei, hoewel niet in die mate als bij varkens. Vooral nu antibiotica in het kuikenvoer zijn verboden, lijkt koper een welkom vervangingsmiddel.

De totale mengvoeder-productie voor pluimvee bedroeg in 1970/71 2,2 miljoen ton en voor rundvee 2 miljoen ton.

Het lijkt niet onwaarschijnlijk dat in totaal ongeveer 3000 ton kopersulfaat in de verschillende soorten mengvoeders wordt verwerkt.

Een deel van het kopersulfaat komt in de varkensmest terecht; deze wordt meestal over het land verspreid. Het is wel raadzaam de mest over een behoorlijk groot oppervlak uit te strooien, daar anders het kopergehalte van de grond wel erg hoog wordt. De grote hoeveelheden mest (10 miljoen slachtvarkens per jaar) gaan langzamerhand een probleem vormen, vooral ook in W-Duitsland wordt hier veel aandacht aan besteed, maar een oplossing is nog niet gevonden.

5. Koper in de menselijke voeding

Bij onderzoek naar het kopergehalte van voedingsmiddelen blijkt dit zeer uiteen te lopen. Zo heeft verse melk in het algemeen een laag kopergehalte, terwijl daarentegen in lever, chocolade en diverse noten dit gehalte hoog is. Wanneer van voedingsmiddelen die door de Europeanen regelmatig worden gegeten het gemiddelde kopergehalte wordt berekend, komt dit op 3,1 mgr per kg. Volwassenen nemen per dag 2-2,5 mgr koper op, waarbij het grootste deel weer wordt uitgescheiden.

Accumulatie van koper in het lichaam is niet waargenomen, het gemiddelde kopergehalte bedraagt 2 mgr per kg gewicht.

Hieronder volgen enkele gemiddelde waarden van de belangrijkste voedingsmiddelen:

Koemelk	0,4 mgr/kg
Rundvlees	0,9 mgr/kg
Varkensvlees	2,0 mgr/kg
Schelvis	2,1 mgr/kg

Kabeljauw	5,5 mgr/kg
Kippeï	2,5 mgr/kg
Wittebrood	2 mgr/kg
Roggebrood	3,5 mgr/kg
Havervlokken	8,8 mgr/kg
Rijst	1,8 mgr/kg
Aardappelen	2,2 mgr/kg
Div. koolsoorten	1,5 mgr/kg
Div. noten	5 mgr/kg
Appels en peren	0,9 mgr/kg
Bananen	1,3 mgr/kg
Druiven	1 mgr/kg

Bij het inblikken van groente worden vooral in Frankrijk koperhoudende complexen van chlorofyl toegevoegd om een mooie groene kleur te verkrijgen. Deze toevoeging vindt in Nederland niet plaats, hoewel het door het Kleurstoffenbesluit van de Warenwet voor de EEG is toegestaan.

In geraffineerde oliën en vetten moeten koperionen praktisch afwezig zijn, daar deze een katalytische werking hebben op de oxidatie. Vooral ook bij de verwerking van melk tot melkprodukten (boter) moet hier veel aandacht aan worden besteed. Van daar het gebruik van vertinde koperen leidingen, vaten etc.

6. Statistische gegevens

Daar in Nederland geen kopererts in de bodem wordt gevonden en er sinds 1962 ook geen ingevoerd erts wordt verwerkt, is het verbruik van geraffineerd koper berekend, door de invoer van het ruwe metaal te verminderen met de uitvoer hiervan. Het ruwe metaal wordt in de vorm van stangen, buizen, draad etc. ingevoerd en in Nederland verder verwerkt tot b.v. bladmetaal, geïsoleerd draad en kabels, waarvan dan weer een groot deel wordt uitgevoerd.

Tot het totale verbruik van koper worden ook ingevoerde legeringen, schroot en halfabrikaten gerekend. (Tabel 2 en tabel 3).

Tabel 2. Verbruik van koper in Nederland $\times 1000$ kg (1 metr. ton).

jaar	1951	1952	1953	1954	1955	1956	1957	1958	1959	1960
geraff.	14.700	11.300	16.700	28.400	25.000	22.000	19.200	28.400	25.400	31.700
totaal	26.600	23.900	30.000	47.200	46.000	45.000	44.200	49.000	48.500	54.100
	1961	1962	1963	1964	1965	1966	1967	1968	1969	1970
geraff.	30.100	21.600	25.600	32.300	32.400	26.900	29.400	34.300	38.400	39.100
totaal	62.200	63.300	59.900	71.100	71.000	66.000	63.200	77.800	86.300	

Tabel 3. Verbruik van kopersulfaat in Nederland $\times 1000$ kg (invoer - uitvoer).

jaar	1951	1952	1953	1954	1955	1956	1957	1958	1959	1960
	739	415	753	1.072	1.110	959	1.112	1.864	2.486	2.126
	1961	1962	1963	1964	1965	1966	1967	1968	1969	1970
	2.055	2.170	2.426	2.608	2.871	2.641	2.731	2.679	2.973	3.592

Tabel 4. Invoer - uitvoer koperverbindingen in Nederland $\times 1000$ kg.

	1969	1970	1971
Koperoxyde	559	530	528
Koperhydroxyden	—	1	2
Koper en loodoxychloriden*	—	313	174
Kopersulfaten	2973	3592	1836
Koper en kwik nitraten*	19	60	26
Koper carbonaten	30	36	37
Koperfosfide	65	98	—4
Bestrijdingsmiddelen die koper bevatten	281	—95	—54
	3927	3935	2545

* De hoeveelheden koperverbindingen worden in de statistiek niet afzonderlijk vermeld. Volgens het national Copper Development Centre zou er in 1969 74 ton koperoxychloride in Nederland zijn ingevoerd. Het verbruik van kopermeststoffen, vnl. koperslakkenbloem is reeds bij hoofdstuk 4 punt 4.1 — koper als meststof — vermeld en in deze tabel niet opgenomen.

Volgens het C.B.S. ligt het verbruik van kopersulfaat (invoer - uitvoer) in 1971 lager, nl. 1836 ton, doordat een grote hoeveelheid naar Algerije werd uitgevoerd.

De statistieken van de buitenlandse handel van het C.B.S. geven voor een aantal koperverbindingen de invoer en uitvoer weer. Hierin komen ook de koperhoudende bestrijdingsmiddelen voor, die zijn samengesteld met geïmporteerde koperverbindingen, en ook gedeeltelijk worden uitgevoerd. Tabel 4 geeft het verschil van invoer en uitvoer van een aantal verbindingen wat afgezien van voorraadvorming op het verbruik neerkomt.

7. Toevoer van koper aan het milieu uit verschillende bronnen

In de vorige hoofdstukken is in enig detail gezien welke hoeveelheden koper door de verschillende gebruiksvormen aan het milieu worden toegevoerd. Deze schattingen zijn uiteraard zeer globaal. Het

lijkt echter nuttig ze nog eens te recapituleren om een totaal beeld te verkrijgen. We vinden dan het volgende:

Bron	Schatting jaarlijkse toevoer tonnen koper
galvano-techn. industrie	200
elektronische industrie	300
bovengrondse leidingen	5
app. + buizen v. fabrieken	40
waterleidingbuizen	50
Landbouw	
a) koperslakkenbloem gem. \pm 15000 ton	225
b) kopersulfaat gem. \pm 3000 ton	750
Totaal	1570

Bij een totaal verbruik van \pm 87000 ton koper (1969), waarin begrepen het kopersulfaat, wordt er 1,8% aan het milieu toegevoegd. Deze hoeveelheid koper komt in hoofdzaak in het water en op het land terecht.

Bij het bovenstaande is geen rekening gehouden met de aanvoer van de bovenrivieren, die voor de Rijn in 1970 2900 ton koper bedroeg.

Het zal duidelijk zijn dat het moeilijk is deze grotere delen met het water door het Deltagebied stromende massa koper te vergelijken met de hierboven getabelleerde hoeveelheden koper die aan het milieu worden toegevoegd. De problematiek van dit koper wordt hierna afzonderlijk behandeld in het artikel van De Groot en Zschuppe.

Onze dank aan de medewerkers van het Nederlands Koperinstituut, KEMA, KIWA, RIZA, Metaal Instituut TNO, Civo-TNO, Inspectie van de Volksgezondheid, Rijksinstituut voor Drinkwatervoorziening, Plantenziektenkundige Dienst, Productschap voor Veevoeder, Instituut voor Bodemvruchtbaarheid, Gem. Duinwaterleiding Den Haag, Waterleiding Mij. „Overijssel”, Rijkslandbouwconsulent voor Bodem en Bemestingsvraagstukken te Wageningen en Bedrijfslaboratorium voor Grond en Gewasonderzoek te Oosterbeek die ons welwillend gegevens ter beschikking stelden.

Literatuur

1. Copper in agriculture, August '71. CIDEAC (Conseil Int. pour le Développement du Cuivre)
2. Die Bedeutung des Kupfers in der menschlichen Ernährung. Dr. E. B. Grunau. Metall - 24 Jahrgang Febr./70 heft 2
3. Die Bedeutung des Kupfers in Trinkwasser. Dr. E. B. Grunau, Städtehygiene 7/1967
4. Die biologische Bedeutung des Kupfers. Dr. Ing. Karl Eichhorn, Dr. E. B. Grunau. Metall-22 1968 heft 11
5. Effects toxiques de certains oligo-éléments par Nguijen Phu Lich. L'Alimentation et la vie 59 (2) 1971
6. International Standards for Drinking Water, World Health Organization 1963
7. Jaarstatistiek van de Kunstmeststoffen - '70/'71 Min. van Landbouw en Visserij
8. Koper en Koperlegeringen, Uitgave no. 3 van het Nederlands Koperinstituut
9. Het verwerken van koperen pijpen. Uitgave no. 5 van het Nederlands Koperinstituut.
10. Maandstatistiek van de buitenlandse handel 1969, 1970, 1971 CBS
11. Metallstatistik 1950-1960 en 1960-1970; Metallgesellschaft Aktiengesellschaft
12. Statistisch overzicht der waterleidingen in Nederland 1964 t/m 1967. Uitgegeven door de Ver. van Exploitanten van Waterleidingbedrijven in Nederland
13. Voorlopige cijfers inzake de waterleidingsbedrijven 1969 (zie 12)
14. Biodeterioration and environmental pollution. H. J. Hueck. Int. Biodetn. Bull. 7 (2) 1971
15. De verontreiniging van de Rijn door zware metalen. Ir. J. J. Hopmans (oud RIZA-directeur)
16. Raw materials and the Price Mechanism. John Maddox. Nature Vol. 236, 14 april 1972
17. The Drawing of Copper Wire - Pickling and Scalping by Franco Paparoni; The Wire Industry, Dec. 1969
18. Handleiding mineralenonderzoek bij rundvee in de praktijk. Min. van Landbouw en Visserij
19. Toegelaten Bestrijdingsmiddelen, juni 1971. Min. van Landbouw en Visserij
20. Cuivre et alliages de cuivre. Comité de liaison des industries de métaux non ferreux de la communauté européenne

Koper in de Nederlandse delta

Copper in Dutch Delta

A. J. DE GROOT en K. H. ZSCHUPPE

Instituut voor Bodemvruchtbaarheid, Haren (Gr.)

Samenvatting

De Rijn transporteert onder normale omstandigheden slib dat grote hoeveelheden koper bevat. Ook de Maassedimenten zijn rijk aan koper, hoewel de gehalten lager zijn dan die van het Rijnslib. In de laatste 10 jaren is de koperbelasting van beide rivieren nog toegenomen. De Eems bevat in vergelijking met de Rijn en de Maas weinig koper. Ook in de door de Schelde afgevoerde sedimenten zijn de gehalten niet hoog. Hier is de toenemende industrialisatie niet van invloed op het koperniveau.

Bij grote waterafvoeren van de rivieren bestaat het meegevoerde slib voor een groot gedeelte uit geërodeerd materiaal. Dit erosieslib, dat op de overstromde uiterwaarden tot afzetting kan komen, bevat minder koper dan het onder normale omstandigheden afgevoerde slib.

Vanaf het zoetwatergetijdengebied wordt een groot gedeelte van het koper ten gevolge van de optredende mobiliseringsprocessen van het slib losgekoppeld. Het Rijnslib bevat bij het bereiken van de Waddenzee nog slechts 10% van de oorspronkelijk aanwezige hoeveelheid koper. Men zou in dit verband kunnen spreken van een zelfreinigende werking van de rivier.

Door het wegvallen van de getijdenbeweging kan door het achterwege blijven van de mobiliseringsprocessen in het

Haringvlietbekken slib tot afzetting komen dat nog volledig in het bezit is van zijn grote koperrijkdom. In het IJsselmeer, waar al sinds 1932 sprake is van een toestand zoals die nu in het Haringvlietbekken is ontstaan, wordt slib aangetroffen waarvan het kopergehalte overeenkomt met dat van oorspronkelijk Rijnslib.

De kopergehalten van de buitendijkse cultuurgronden en jonge bedijkingen zijn een afspiegeling van de gehalten in het slib ter plaatse. De gehalten in de onderzochte gras- en tarwemonsters zijn op hun beurt weer een afspiegeling van de kopergehalten in de bodem.

Summary

This article reviews some sedimentological findings bearing on the four rivers which are of predominant significance to the Netherlands: the Rhine, Meuse, Scheldt and Ems. Focusing on copper, it discusses characteristics of silt deposits occurring throughout the country. Four tables and two graphs present detailed information which is inter alia subjected to correlative examination with regard to agricultural and industrial features.

Inleiding

De rivieren transporteren grote hoeveelheden water vanuit het binnenland naar zee. Met dit water worden vaste bestanddelen van verschillende afmetingen meegevoerd. De fijnste bestanddelen, het slib, worden zelfs bij betrekkelijk geringe stroomsnelheden nog over grote afstanden getransporteerd. Pas onder omstandigheden van betrekkelijke rust in het water vindt afzetting van dit gesuspendeerde materiaal plaats. Dergelijke omstandigheden doen zich o.a. voor daar waar de rivieren zich verbreden, in havens, op de landaanwinningsvelden langs de kust en plaatselijk in geulen op de schorren en kwelders.

Contaminatie van de rivieren met zware metalen, voor een groot gedeelte afkomstig van industriële afvalprodukten, heeft inmiddels zodanige vormen aangenomen, dat deze tot verontrusting aanleiding kunnen geven. Niettegenstaande de betrekkelijk geringe concentraties aan zwevende bestanddelen in het rivierwater (40-80 mg per liter) wordt het merendeel van de metalen gebonden aan het zwevende slib getransporteerd.

In dit artikel wordt aandacht besteed aan het voorkomen en het gedrag van koper in het slib van de voor de Nederlandse delta van belang zijnde rivieren Rijn, Maas, Schelde en Eems. Onder slib worden hier verstaan alle vaste bestanddelen met een diameter < 16 micron.

Herkomst en transport van slib

Het gedrag van aan het zwevende slib gebonden koper kan pas goed worden bestudeerd wanneer we geïnformeerd zijn over de weg die het slib met het water aflegt van de rivier naar de afzettingsgebieden. Vroeger onderzoek naar de herkomst en het transport van slib verschafte ons inzichten in de wegen die het zwevende materiaal via de estuaria van de verschillende rivieren aflegt (De Groot, 1964).

Het Rijnmateriaal bereikte tot voor kort, vermengd met geringere hoeveelheden Maassediment via het Haringvliet en via de Nieuwe Waterweg de zee om vervolgens in een betrekkelijk smalle zone

langs de kust naar de Waddenzee getransporteerd te worden. In de Waddenzee vervolgt het sediment zijn weg in oostelijke richting. Een deel van het Rijnmateriaal komt in de Dollard tot afzetting. De afzetting van Eemsmateriaal blijft beperkt tot de benedenloop van de rivier en het zuidoostelijke gedeelte van de Dollard.

Sedert de definitieve afsluiting van het Haringvliet in november 1970 wordt onder omstandigheden van normale oppervlaktewaterafvoer via deze Rijntak nog maar nauwelijks slib naar zee afgevoerd. Enerzijds komen hierdoor in het Haringvlietbekken grotere hoeveelheden slib tot afzetting, anderzijds wordt de aanslibbing in de havens van Europoort beperkt.

De afzetting van Scheldeslib blijft in hoofdzaak beperkt tot het oosten van de Westerschelde (Verdronken Land van Saafdinge). In westwaartse richting neemt de invloed van de Schelde gaandeweg af.

Methoden van onderzoek

Monsters van afgezet slib afkomstig van eenzelfde lokatie vertonen steeds een lineair verband tussen het kopergehalte en het gehalte aan de fractie < 16 micron. Laatstgenoemde fractie wordt betrokken op de CaCO₃-vrije minerale bestanddelen. Dezelfde relaties werden ook bij andere metalen waargenomen (De Groot, 1970).

Het lineaire verband maakt het mogelijk het kopergehalte van eenzelfde lokatie en eenzelfde type sedimentatiemilieu te karakteriseren door één waarde. Deze waarde verkrijgt men door het kopergehalte te extrapoleren naar 100% van de fractie < 16 micron.

De koperanalyses in het bij 40°C gedroogde slib zijn verricht na ontsluiting van het materiaal met heet geconcentreerd HNO₃, H₂SO₄ en HClO₄. In het verkregen extract werd het koper aanvankelijk spectrofotometrisch bepaald. Sinds enige tijd wordt de bepaling verricht langs de weg van de atomaire absorptie onder gebruikmaking van een Perkin-Elmer atoomabsorptiespectrofotometer (Balraadsing, 1972).

Kopergehalten van de rivierafzettingen

De naar 100% van de fractie < 16 micron geëxtrapoleerde kopergehalten in afzettingen van de rivieren Rijn, Maas, Schelde en Eems, die in de perioden 1958-1960 en 1969-1971 zijn verzameld, zijn weergegeven in tabel 1. De lozing van grote hoeveelheden afvalprodukten en andere verontreinigingen op de Rijn weerspiegelt zich in de hoge kopergehalten van de sedimenten die door deze rivier worden afgevoerd. Het hoge kopergehalte uit de jaren 60 is in het laatste decennium zelfs nog met 10% toegenomen. De rivier de Eems, die door een vrij dun bevolkte landstreek met weinig indus-

Tabel 1. Kopergehalten, uitgedrukt in ppm, in afzettingen van Rijn, Maas, Schelde en Eems uit de perioden 1958-1960 en 1969-1971 (geëxtrapoleerd naar 100% van de fractie < 16 micron).

	1958-1960	1969-1971
Rijn	540	600
Maas	310	340
Schelde	150	140
Eems	150	160

trieën stroomt, voert sedimenten af waarvan de kopergehalten veel lager zijn dan van de Rijnsedimenten. Het koperniveau in de Maassedimenten houdt ongeveer het midden tussen dat van de Rijn en de Eems. Niettegenstaande de aanwezigheid van vrij veel industrieën in het stroomgebied van de Schelde bevatten de door deze rivier afgevoerde sedimenten kopergehalten die vergelijkbaar zijn met de in de Eemssedimenten gevonden waarden. De toenemende industrialisatie in het gebied rond Antwerpen is tot nu toe niet van invloed geweest op de kopergehalten van de Scheldesedimenten. De gehalten zijn de laatste jaren zelfs gedaald.

Alle genoemde kopergehalten hebben betrekking op sedimenten die onder omstandigheden van een normale waterafvoer met de rivier worden meegevoerd. De zwevende bestanddelen zijn dan voornamelijk afkomstig uit het brongebied van de rivier. Bij een grote waterafvoer treedt erosie van de bodem en van de oevers van de rivier op. De fysische en chemische eigenschappen van het dan afgevoerde erosieslib wijken duidelijk af van het onder normale omstandigheden afgevoerde z.g. oorspronkelijk slib. Tengevolge van de reeds ingetreden bodemgenetische processen op de rivierbodem blijft het materiaal na erosie zodanig geconglomereerd dat het opnieuw tot afzetting komt zodra de hoge stroomsnelheden enigszins afnemen. Vooral op de overstromde uiterwaarden doen zich dergelijke situaties van afnemende stroomsnelheden voor. Het materiaal dat na het droogvallen op de uiterwaarden achterblijft en waaruit deze in de loop der jaren zijn opgebouwd, bestaat dan ook voor een zeer groot gedeelte uit dit erosieslib.

Erosieslib bevat geringere hoeveelheden zware metalen dan het onder normale omstandigheden afgevoerde materiaal. Ook bij koper is dit het geval. In figuur 1 is het verband tussen het kopergehalte en het gehalte aan de fractie < 16 micron van de in 1970 in de Dordtse Biesbosch onder omstandigheden van normale waterafvoer afgezette Rijnsedimenten weergegeven in vergelijking met de gehalten in het slib dat in 1970 na extreem hoge waterstanden op de uiterwaarden langs de Rijn en de Waal was achtergebleven. Uit de figuur blijkt duidelijk dat de sedimenten waaruit de uiterwaarden worden opgebouwd veel lagere kopergehalten hebben dan het materiaal dat normaal door de rivier

Tabel 2. Kopergehalten, uitgedrukt in ppm, in afzettingen uit het Rijnestuarium en de Waddenzee (geëxtrapoleerd naar 100% van de fractie < 16 micron).

Lokatie	water ‰ Cl	sedimenten			
		1958-1960		1969-1970	
		ppm Cu	% gemobiliseerd	ppm Cu	% gemobiliseerd
Biesbosch	0	540	0	600	0
Haringvliet	2	180	66	120	79
Brielse Gat	—	150	83	—	—
Noord Friesland	16	50	90	60	90
Noord Groningen	16	40	92	40	94

wordt meegevoerd. Ook bij de Maas treden deze verschillen in kopergehalten van oorspronkelijk slib en erosieslib op.

Mobilisering van koper in het getijdengebied van de delta's

Zolang in de rivier de invloed van de zee nog niet merkbaar is blijven de metalen aan het in het water zwevende slib gebonden. Vanaf het zoetwatergetijdengebied wordt echter een deel van de metalen gemobiliseerd en gaat als metaalorganische complexen in het omringende water in oplossing (De Groot, 1966; De Groot et al, 1968; De Groot et al, 1971).

Voor koper zijn de mobiliseringsprocessen die in het Rijnestuarium optreden weergegeven in tabel 2. Reeds op het traject Biesbosch-Haringvliet vindt een intensieve mobilisering van het koper plaats. Bij het verdere transport van het sediment van het Haringvliet naar de Waddenzee zet de daling van de kopergehalten zich nog voort. Er valt geen wezenlijk verschil te constateren in het gedrag van het koper in de 2 groepen monsters die met een tussenpoos van ongeveer 10 jaar zijn verzameld.

De in het bijzonder in het estuarium optredende intensieve ontleding van de aan het slib gebonden organische stof is, althans voor een deel, verantwoordelijk voor de mobiliseringsprocessen. Uit laboratoriumonderzoek is gebleken dat de ontledingsproducten van de organische stof met de me-

Tabel 3. Kopergehalten, uitgedrukt in ppm in afzettingen uit het Eemsestuarium (geëxtrapoleerd naar 100% van de fractie < 16 micron).

Lokatie	water ‰ Cl	sedimenten			
		1958-1960		1971	
		ppm Cu	% gemobiliseerd	ppm Cu	% gemobiliseerd
Diele	0	150	0	160	0
Leerort	<0,3	50	67	50	72
Ditzum	6	40	73	30	82
Duitse Dollard	>6	30	78	—	—

talen uit het slib metaalorganische verbindingen vormen. De mate van mobilisering van een metaal is afhankelijk van het vermogen van het metaal om stabiele oplosbare complexen te vormen. Door middel van papier-elektroforese kon worden aangetoond dat het vermogen van koper om complexen te vormen met de organische ontledingsproducten van de sedimenten groot is, omdat het in staat is zowel negatieve als positieve stabiele complexe ionen te vormen.

De mobiliseringsprocessen die in het getijdengebied van de Eems optreden zijn weergegeven in tabel 3. Niettegenstaande een veel lager niveau van het koper is de mobiliteit van dit element in het Eemsslib gelijk aan die in het Rijnslib. Terwijl het in de Rijn voornamelijk alifatische verbindingen zijn die verantwoordelijk zijn voor het mobiliseren van het metaal, bestaan de mobiliserende verbindingen in de Eems voor een groot gedeelte uit fenolen. Deze fenolen kunnen afkomstig zijn uit de veengebieden waardoor deze rivier stroomt.

Over de mate waarmee de mobiliseringsprocessen in de Westerschelde optreden kan geen uitspraak worden gedaan. Vanaf het vlak bij Antwerpen gelegen Verdronken Land van Saaftinghe naar de

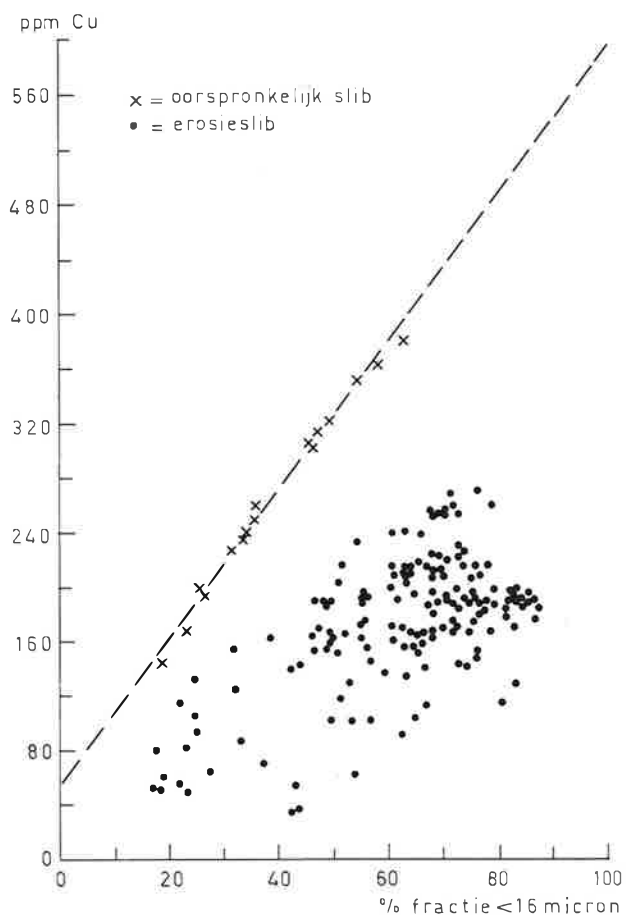


Fig. 1. Verband tussen het kopergehalte en het percentage van de fractie < 16 micron van in 1970 onder omstandigheden van normale waterafvoer en onder omstandigheden van abnormaal hoge waterafvoer afgezette sedimenten.

Zwarte Polder, ten westen van Breskens, zien we weliswaar een duidelijke daling van de kopergehalten van resp. 154 ppm naar 55 ppm in 1960 en van 135 ppm naar 27 ppm in 1971. Deze dalingen mogen echter niet zonder meer worden toegeschreven aan het optreden van mobiliseringsprocessen. De afzetting van Scheldeslib blijft nl. in hoofdzaak beperkt tot het oosten van de Westerschelde, westwaarts vermindert de invloed van de Schelde gaandeweg en vindt vermenging met vanuit zee binnendringend slib met lage kopergehalten plaats (De Groot, 1963).

Invloed van civieltechnische werken op het gedrag van koper in de sedimenten

Tot aan de definitieve afsluiting van het Haringvliet in november 1970 werd op het traject Biesbosch-Haringvliet ongeveer 70% van het koper van het Rijnslib losgekoppeld en met het naar zee stromende water afgevoerd (tabel 2). Aangezien de betekenis van de organische stof voor de mobilisatie gekoppeld is aan de getijdenbeweging kan men zich afvragen of door het achterwege blijven van deze processen na de afsluiting in het gehele Haringvliet slib tot bezinking zal komen dat sterk verontreinigd is met koper en andere zware metalen. Mede doordat ten gevolge van de geringere stroomsnelheden grotere hoeveelheden slib tot bezinking kunnen komen, zou aldus een sterke accu-

mulatie van koper in dit bekken kunnen plaats vinden. In samenwerking met de afdeling Milieuonderzoek van de Deltadienst van de Rijkswaterstaat wordt dit probleem thans onderzocht.

Een situatie zoals die eind 1970 in het Haringvliet werd gecreëerd bestaat reeds gedurende 40 jaar in het IJsselmeer: ongeveer 10% van het Rijnwater bereikt via de IJssel zonder een getijdengebied te passeren het IJsselmeer. Mede op aandrang van de Dienst der Zuiderzeewerken wordt momenteel een onderzoek ingesteld naar de gehalten aan zware metalen in de sedimenten op de bodem van het IJsselmeer. In februari 1972 werden de eerste 60 bodemonsters verzameld in het Ketelmeer voor de monding van de IJssel. In figuur 2 is het verband tussen het kopergehalte en het gehalte aan de fractie < 16 micron in deze sedimenten weergegeven in vergelijking met de gemiddelde niveaus van Rijnsedimenten uit 1958 en 1970. Zowel in het uiterst dunne bovenlaagje als in de 5-10 cm dikke, enigszins geconsolideerde bovenlaag komen de kopergehalten vrijwel overeen met de gehalten in het Rijnslib, zoals dat in de Biesbosch tot afzetting kwam. Vooruitlopend op de resultaten van het onderzoek van bodemmateriaal van het gehele Ketelmeer en het aansluitende gedeelte van het IJsselmeer (een onderzoek dat inmiddels ter hand is genomen) kan worden gesteld dat de door de IJssel afgevoerde sedimenten, zoals die voor de Ketelmond tot afzetting komen, nog volledig in het bezit zijn van hun hoge gehalten aan koper.

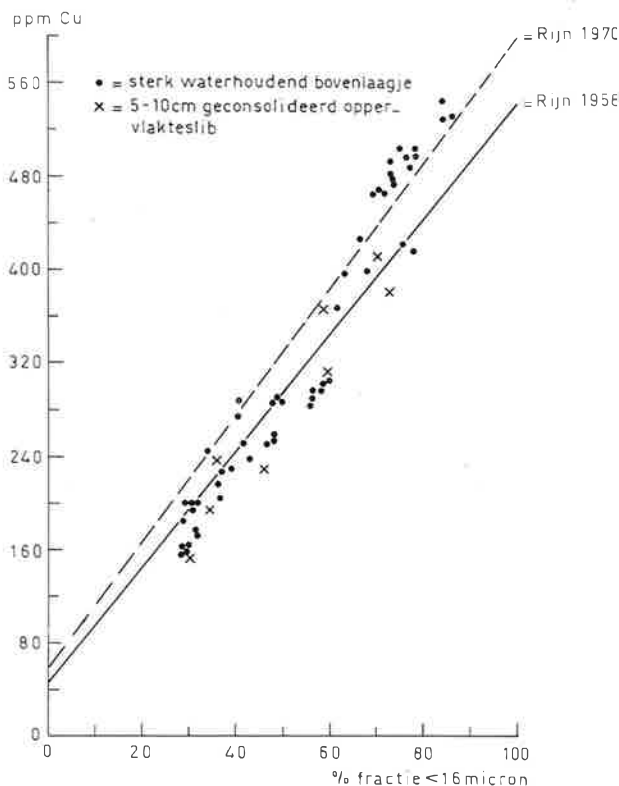


Fig. 2. Verband tussen het kopergehalte en het percentage van de fractie < 16 micron van sedimenten uit het Ketelmeer in vergelijking met de gemiddelde niveaus van Rijnsedimenten uit 1958 en 1970.

Kopergehalten van cultuurgronden

De mobiliseringsprocessen in de Rijndelta hebben tot gevolg dat de hoge kopergehalten, die in de door de Rijn aangevoerde sedimenten worden aangetroffen, in het Waddengebied tot meer normale waarden zijn gereduceerd. Deze regionale verschillen in het slib bepalen in belangrijke mate het koperniveau van de cultuurgronden, dat op zijn beurt een maat is voor de verzorging van de gewassen met koper.

In tabel 4 zijn de kopergehalten van een aantal vers afgezette sedimenten, buitendijkse cultuurgronden en jonge bedijkingen in de delta van de Rijn weergegeven. Bovendien zijn in deze tabel de gehalten in het gras en voorzover in deze gebieden tarwe werd aangetroffen, de gehalten in jonge tarweplantjes opgenomen. Onder buitendijkse cultuurgronden worden hier verstaan uiterwaarden, grienden, schorren en kwelders.

De bij de zeer hoge waterstanden op de uiterwaarden tot afzetting komende sedimenten vertonen een grote divergentie in de kopergehalten (tabel 4 en figuur 1). Deze divergentie resulteert in plaatselijke verschillen in de laag 0-5 cm van de uiterwaarden langs de rivier.

De kopergehalten van het gras in de buitendijkse gebieden vertonen een geleidelijke daling in de

Tabel 4. Naar 100% van de fractie <16 micron geëxtrapolerde Cu-gehalten van sedimenten en de gemiddelde Cu-gehalten van gras en tarwe in de Rijndelta.

Lokatie	Vers afgezette sedimenten	Buitendijkse cultuurgrond		Jonge bedijkingen		
		sedimenten	gras	sedimenten	gras	tarwe
	ppm Cu	ppm Cu	ppm Cu	ppm Cu	ppm Cu	ppm Cu
Uiterwaarden	140-340	200-350	12-20	—	—	—
Biesbosch	540	390	34	70	15	18
Hollands Diep	—	—	22	—	—	—
Haringvliet	180	—	17	—	—	—
Brielse Gat	150	—	13	—	—	—
Noord Friesland	50	50	11	40	12	—
Noord Groningen	40	40	12	40	10	9
Oostelijk Flevoland	—	—	—	30	10	9

richting van de Waddenzee, hetgeen aansluit bij de waarnemingen in de sedimenten. De relatief grote spreiding in de gehalten in het gras van de uiterwaarden is een afspiegeling van de sterk wisselende gehalten in de sedimenten. Ook in de bedijkte stadia valt zowel bij gras als bij tarwe een duidelijke afname waar te nemen in de richting van het benedenstroomse gedeelte van de delta.

Over het algemeen wordt aangenomen dat 7 ppm koper in het gras voldoende is om een goede kopervoorziening van het vee te garanderen. Ofschoon de gemiddelde waarden boven deze grens liggen is het zeer wel mogelijk dat, vooral in het benedenstroomse deel van de delta, op de duur de kopervoorziening van het gras zonder een koperbemesting niet meer gegarandeerd zal zijn. De kopergehalten in het gras van de uiterwaarden zijn daarentegen plaatselijk hoog en, met name voor schapen, te hoog.

Het is niet goed mogelijk om voor tarwe een duidelijke kritische grens aan te geven (Smilde en Henkens, 1967). Het is bekend, dat plantjes die goed van koper zijn voorzien, afhankelijk van het ras, 4-10 ppm van dit metaal bevatten. In het benedenstroomse deel van de delta (Groningen) ligt bij tarwe het gemiddelde kopergehalte beneden de bovenste grenswaarde van 10 ppm, zodat het wenselijk lijkt in deze gebieden aandacht te schenken aan de kopervoorziening van de gewassen. Speciale aandacht verdient de in 1956 bedijkte polder Oostelijk Flevoland. In dit belangrijke landbouwgebied, waarvan de bodem voornamelijk is opgebouwd uit Rijnsedimenten, die via de Noordzee naar de voormalige Zuiderzee werden getransporteerd, hebben de kopergehalten reeds nu een marginale of submarginale waarde bereikt.

Niettegenstaande de grote koperrijkdom van het Rijnslib zijn de mobiliseringsprocessen dermate ingrijpend dat voor koper de verliezen in het benedenstroomse gedeelte van de delta zo groot zijn, dat langs de Friese en Groningse waddenkust, evenals in Oostelijk Flevoland, uit plantenvoedingsoogpunt in bepaalde gevallen onvoldoende koper in de bodem aanwezig is.

Literatuur

- Balraadjings, B. D.: Bepaling van totaal koper in grond met behulp van atoomabsorptie.
Intern Rapport, Instituut voor Bodemvruchtbaarheid, Haren (Gr.), 1972.
- Groot, A. J. de: Mangaantoeestand van Nederlandse en Duitse holocene sedimenten.
Versl. landbouwk. Onderz., 69. 7 (1963) 1-164.
- Groot, A. J. de: Origin and transport of mud in coastal waters from the Western Scheldt to the Danish frontier.
In: Developments in Sedimentology, Amsterdam (1964), 93-103.
- Groot, A. J. de: Mobility of trace elements in deltas.
Transactions Commissions II and IV, International Society of Soil Science, Aberdeen (1966), 267-279.
- Groot, A. J. de: Geochemisch onderzoek in deltagebieden.
Natuurkundige Voordrachten, Nieuwe Reeks, Diligentia, 's-Gravenhage, 48 (1970) 61-75.
- Groot, A. J. de, Zschuppe, K. H., Bruin, M. de, Houtman, J. P. W., and Amin Singgih, P.: Activation analysis applied to sediments from various river deltas.
The 1968 International Conference on Modern trends in Activation Analysis, Gaithersburg (USA) (1968) 62-71.
- Groot, A. J. de, Goeij, J. J. M. de, and Zegers, C.: Contents and behaviour of mercury as compared with other heavy metals in sediments from the rivers Rhine and Ems.
Geologie en Mijnbouw, 50 (1971) 393-398.
- Smilde, K. W., and Henkens, Ch. H.: Sensitivity to copper deficiency of different cereals and strains of cereals.
Neth. J. Agric. Sci., 15 (1967) 249-258.

Het kopergehalte van drink- en gebruikswater

The copper contents of drinking- and utility water

Dr. H. J. BOORSMA en C. H. J. ELZENGA

Rijksinstituut voor Drinkwatervoorziening

Samenvatting

De genese van de incidenteel in drinkwater opgeloste of getransporteerde koperverbindingen afkomstig van de elektrochemische corrosie wordt besproken aan de hand van een vergelijkend praktijkonderzoek met vergelijkbaar proefmateriaal. Het onderzoek is uitgevoerd in drinkwater van 13 verschillende samenstellingen.

In de beschouwingen zijn zowel de invloeden betrokken van de watersamenstelling als van de materiaalsamenstelling.

In het onderzoek is aangetoond dat het koper zijn passivering in hoofdzaak ontleent aan de blokkering van het elektronentransport door de elektronisch niet geleide toevalsoriëntatie van de cupro-oxyde kristallen.

De toevalsoriëntatie is mede oorzaak dat kristalgroei achterwege blijft waardoor een dichte en aaneengesloten microkristallijne beschermingslaag ontstaat met halfgeleiderseigenschappen die het elektronentransport in alle richtingen volledig verhindert.

De door elektronentransport vanuit het potentiaalelement geleide koperaantasting in de corrosieput bevordert de kristalgroei van de gerichte kristallisatie van het macrokristallijne cupro-oxyde in de put.

Het elektronentransport in de corrosieput nu is op geen enkele manier geblokkeerd. De gedocumenteerde resultaten van dit onderzoek worden elders gepubliceerd.

Inleiding

Hogere kopergehalten in het drinkwater dan de natuurlijke gehalten van de grondstof zijn een gevolg van de toepassing van koper leidingmateriaal ten behoeve van het transport van het water.

Er zijn een aantal factoren, die het in oplossing gaan van het koper direct of indirect beïnvloeden. Bepalend voor de mate waarin het koper bij transport van water in oplossing gaat, is

- 1) De samenstelling van het water resp. het koperoplossend vermogen ervan.
- 2) De samenstelling van het kopermetaal en de

Summary

The causes of the presence of dissolved copper in a drinking water, due to the copper solvency of the water and the material composition and metal defects of the copper tubes are discussed.

The fundamental cause of pitting corrosion due to the presence of graphite films, acting as potential elements of electrochemical corrosion, recognized and postulated for the first time by Campbell, has been confirmed in a quantitative sense by a long term comparative research in the Netherlands.

The copper metal is protected in an effective way by the formation and depositing of a first layer of random oriented cuprous oxide crystals, having the property of a half conductor.

The random distribution of the micro-crystalline cuprous oxide causes a high electrical resistance to electron transport in both opposite directions.

The crystal growth of the macro crystalline cuprous oxide in the corrosion pit is directed by the copper-graphite potential element. The corrosion pit area is accessible to electron transport in both opposite directions.

Pitting corrosion due to electro-chemical action is an equilibrium between the magnitude of the existing potential elements on the metal surface and the protecting property of passivation of the acting water.

The copper solvency of a copper metal exposed to a water is increased by a high dissolved oxygen content of the transported water and by a low bicarbonate hardness.

The copper solvency of a water can be reduced by reducing the content of dissolved oxygen of the distributed water.

tijdens de fabricage ontstane inwendige defecten in het kristalrooster en de uitwendige verontreinigingen. Door het ontstaan van potentiaal-elementen wordt de passivering tegengewerkt.

Bij afwezigheid van opgeloste zuurstof in het water, is al het in het water aanwezige koolzuur agressief voor metaal.

Er zijn enkele gevallen bekend waarbij koperen putfilters door de winning van zeer zacht anaeroob grondwater papierdun waren geworden, zonder dat putcorrosie was opgetreden.

Bij aanwezigheid van opgeloste zuurstof en het te

transporteren water wordt de oplosnelheid geleidelijk verminderd door de afzetting van microkristallijn onoplosbaar cupro-oxyde.

De eerste beschermingslaag bestaat in alle gevallen altijd uit cupro-oxyde als gevolg van het contact met het metallisch koper. Indien potentiaalelementen ontbreken geeft deze laag reeds volledige bescherming tegen verdere aantasting.

Deze bijzonder effectieve bescherming door de eerste aaneengesloten cupro-oxyde film dankt het aan de fysische eigenschappen van dit oxyde. Het cupro-oxyde is namelijk een halfgeleider. Indien tijdens de vorming richting gevende potentiaalelementen ontbreken, vindt een ongerichte kristallisatie plaats van microkristallijn cupro-oxyde. Door de kris-kras-oriëntatie van de kristalassen en de halfgeleiderseigenschappen is de laag ondoordringbaar voor elektrontransport.

De elektrische weerstand van deze laag is zeer hoog.

Bij aanwezigheid van voldoende machtige potentiaalelementen, vindt daar ter plaatse gerichte kristallisatie plaats en kristalgroei tot macrokristallijn cupro-oxyde dat zoveel ruimte open laat, dat doorgang van elektronen mogelijk is in beide richtingen. De secundair gevormde oxydelagen, die niet in direct contact zijn met het metaal bezitten niet de eigenschap van halfgeleider en kunnen dus alleen van nut zijn voor de bescherming van de cupro-oxydelaag. De aard en de samenstelling van de basische cuprizouten zijn afhankelijk van de watersamenstelling.

Indien de cupro-oxydelaag wordt afgedekt door een laag malachiet is een zeer hechte en weinig oplosbare beschermingslaag gevormd. Afhangelijk van de hardheid van het water, het sulfaatgehalte en de alkaliteit kunnen bijvoorbeeld ook kristallijne sulfaten zoals bronchialiet gevormd worden, die de cupro-oxydelaag niet afdekken.

De invloed van de materiaalsamenstelling

Uit een vergelijkend onderzoek met uit één blok koper geperst en getrokken kopermateriaal van elke onderzochte samenstelling en beproefd in 13 verschillende watertypen konden de volgende significante conclusies worden getrokken:

- 1) De aanwezigheid van grafietfilms is de hoofdoorzaak van het optreden van putcorrosie in koperen leidingen. In kwantitatieve zin is door dit onderzoek de conclusie van *Campbell* bevestigd.
- 2) Het koperoplossend vermogen van een water wordt versterkt door de aanwezigheid van interne defecten in het kristalrooster en de aanwezigheid van potentiaalelementen.

De gevoeligheid van kopermateriaal voor putcorrosie neemt toe in de reeks fosforgedesoxydeerd koper → arseenhoudend fosforgedesoxy-

deerd koper → zuurstofhoudend koper (*Boorsma, Elzenga*).

De gevoeligheid voor putcorrosie van koperen leidingmateriaal neemt af met toenemende hardheid van het koper. De gevoeligheid voor putcorrosie van zacht koper is groter dan van half hard koper en het geringst voor hard koper (*De Vroeg en Dupommier*).

- 3) Het koperoplossend vermogen van een water wordt verhoogd door een hoog gehalte aan opgeloste zuurstof in het water ($O_2 > 6$ à 7 mg/l). In het bijzonder is dit het geval bij een lage bicarbonaat hardheid van het water $HCO_3 < 1$ ml. g/l.

Conditionering van het drinkwater ter vermindering van het koperoplossend vermogen is dus mogelijk en in enkele gevallen reeds toegepast o.a. te Apeldoorn. In geen enkel geval is door het Röntgen-diffractieonderzoek van de beschermingslagen na relatief langdurige expositie het cuprochloride aangetoond, noch in de corrosieputten noch in de gave beschermingslaag.

Deze tegenspraak met de onderzoeken van *May, Campbell en Lucey en Pouboix* kan mogelijk verklaard worden door de („te”) korte onderzoeksduur. Dit zou dan betekenen dat het metastabiele cuprochloride weer verdwijnt door hydrolyse. Dit verschijnsel pleit tegen het corrosiemechanisme, zoals dit is ontwikkeld door *Lucey e.a.*, waarin het cuprochloride en de basische kopersulfaten een rol zijn toebedeeld in de spontane generatie van de putcorrosie tengevolge van de zuurvorming bij hydrolyse van deze metastabiele verbindingen. Deze spontane generatietheorie van de putcorrosie vermag evenmin te verklaren, waarom gave, putcorrosievrije buizen na langdurig gebruik in een beschermend water, bij overbrenging in een distributiegebied met chloride- en sulfaatarm heidewater, plotseling en na zeer korte tijd ernstige putcorrosie gaan vertonen. Bij analyse van het buismateriaal bleken steeds aanmerkelijke hoeveelheden grafiet aanwezig te zijn. Het grootste deel van het gecorrodeerde materiaal bestond uit zuurstofhoudend koper.

Naar de mening van de auteurs heeft iedere putcorrosie voor zijn activering een inleidend potentiaalelement nodig dat vermoedelijk steeds gesuperponeerd is op een inwendig defect in het kristalrooster, dat eveneens als potentiaalelement optreedt. De spontane generatie van een putcorrosie lijkt onwaarschijnlijk en is waarschijnlijk eerder het gevolg van het overmatig gebruik in de praktijk van sterk zure en chloorhoudende soldeermiddelen. Het optreden van putcorrosie lijkt eerder beheerst te worden door het evenwicht tussen de snelheid van passivering door een goed afsluitende laag en de machtigheid van de gesuperponeerde inwendige en uitwendige potentiaalelementen.

Een opname van het kopergehalte van enkele waterwegen, bepaald met continue analyse

Drs. W. BROUWER en J. A. VAN HOOVEN
Centraal Laboratorium TNO

Recordings of the copper content of
some waterways determined
by means of continuous analysis

Samenvatting

Tijdens een aantal vaartochten werd door middel van een AutoAnalyzer automatisch en continu de koperconcentratie in het bevaren water gemeten. Bij het tegelijkertijd analyseren van gefiltreerd en niet-gefiltreerd water bleek, dat het filtreren een verlaging van het kopergehalte met ca. 40% veroorzaakt. Aan de hand van de gegevens over koperconcentraties in oppervlaktewater, verzameld tijdens vaartochten door zuidwest Nederland, zijn koperkaarten van een aantal waterwegen samengesteld.

1. Inleiding

Eén van de vele gevaren die het leven in de Nederlandse wateren bedreigen is een te hoog gehalte aan toxische metalen in het water. Om de omvang en de ernst van dergelijke bedreigingen te leren kennen, is het nodig te inventariseren. Daartoe zullen vele kwantitatieve metingen nodig zijn. Hoewel koper op zichzelf niet de meest gevaarlijke stof is, leent het zich goed tot een model-studie-object.

Bij het inventariseren moeten wij bedenken dat het kopergehalte van het water geenszins constant is, maar van plaats tot plaats en ook in de tijd varieert. Grote aantallen monsters zullen moeten worden genomen om een redelijk inzicht te krijgen in de stand van zaken voor een bepaalde waterweg. Bij deze steekproefsgewijze monsternamen blijft altijd de kans bestaan dat plaatselijke hoge concentraties, tengevolge van recente lozingen, worden gemist. Vandaar dat wij behoefte hadden om ook te kunnen beschikken over een continue monsternamen en direct daaraan aansluitende analyse, om daarmee een profiel van de waterweg voor dat tijdstip te kunnen maken.

De basis van onze onderzoekingen was een modificatie van eerder beschreven analyseapparatuur [1], die zowel via discontinue monsternamen met een tempo van minimaal 20 monsters per uur, als ook met continue monsternamen gedurende lange tijd, met een minimum aan toezicht kan opereren. De techniek van continue monsternamen en si-

Summary

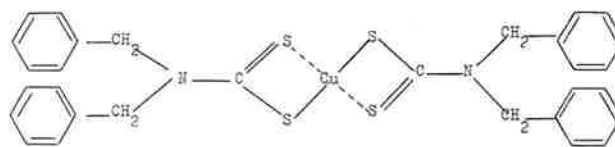
During cruises on rivers and canals in the Netherlands the copper concentration of the surface water was continuously measured by means of an AutoAnalyzer.

Simultaneous analysis of filtered and unfiltered water showed that filtration reduces the copper level found by 40%. The recordings made during cruises in the Southwest of the Netherlands are collected in maps.

multaan daaraan verloopende analyse kan al varen-
de worden uitgevoerd. Naast het onmiddellijk ver-
kregen profiel is een extra voordeel, dat problemen
rond monsterveroudering niet optreden.

2. Principe van de analyse

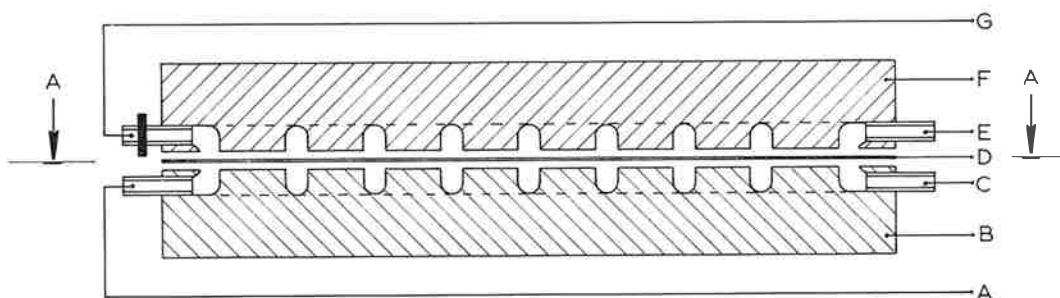
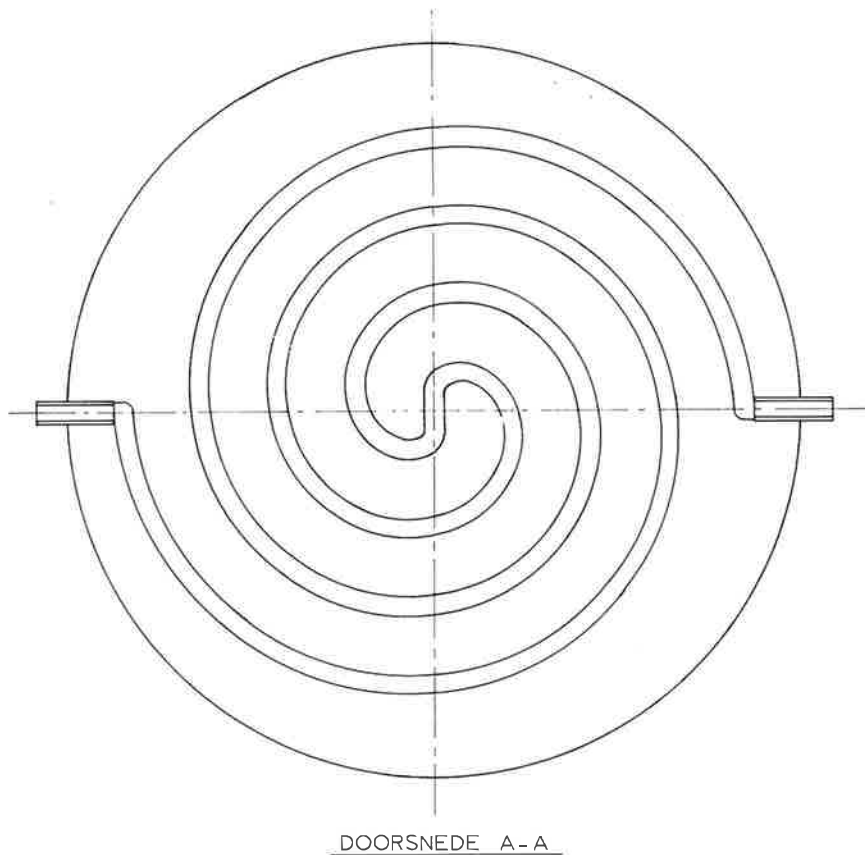
De reactie van ionogeen koper met zinkdibenzyl-
dithiocarbamaat [2] in zuur milieu is specifiek en
bovendien zeer gevoelig. Er vormt zich een geel
gekleurd complex:



koperdibenzylthiocarbamaat

Het complex kan met tetrachloorkoolstof uit wa-
ter worden geëxtraheerd en heeft in dit oplosmid-
del de grootste optische dichtheid bij een golf-
lengte van 440 nm.

In water zal koper bij een pH van < 1,0 in het
algemeen ionogeen in oplossing zijn en derhalve
toegankelijk voor analyse. Het koper, gebonden
aan het in natuurlijk water voorkomende slib,
wordt tijdens de bepaling slechts ten dele door het
zuur in de ionogene vorm gebracht [3].



Ook bij de door ons eerder beschreven [1] automatisch uitgevoerde koperbepaling is te verwachten dat na het aanzuren een gedeelte van het aan slib gebonden koper vrij komt, zodat met veel slib het meetresultaat op aanzienlijke wijze zal worden beïnvloed. Wij besloten derhalve om het watermonster vóór de analyse te filteren.

Daarnaast leek het interessant om de analyseresultaten van gefiltreerd en niet-gefiltreerd water met elkaar te vergelijken.

3. Procedure van de bemonstering en de analyse

3.1. De monstername

Het water dat de AutoAnalyzer als monster aanzuigt, werd met behulp van een speciale voorziening binnen het op het dek van het onderzoeksvaartuig gelegen laboratorium gebracht.

Fig. 1.

Schematische voorstelling van een filterapparaat voor slibhoudend water (dialysator van AutoAnalyzer)

- A = aanvoer van niet-gefiltreerd monster
- B = onderplaat met spiraalvormige groef
- C = afvoer van slib en overmaat niet-gefiltreerd water
- D = papieren filter, Schleicher & Schüll, nr. 597
- E = afvoer gefiltreerd monster
- F = bovenplaat met spiraalvormige groef
- G = afgesloten zijde van bovenste groef

Diagram of a filtering device for water containing silt (AutoAnalyzer dialyzer)

- A = inlet for unfiltered water
- B = bottom plate provided with spiral groove
- C = outlet for silt and excess of unfiltered water
- D = filterpaper Schleicher & Schüll No. 597
- E = outlet for filtered water
- F = top plate provided with spiral groove
- G = closed end of upper spiral groove

Aan de voorkant van het schip staken wij daartoe een kunststofbuis met een stalen mantel door de ankerkluis in het water. Hierdoor konden wij met een in kunststof uitgevoerde pomp vrijwel onbeperkte hoeveelheden monster oppompen. Voor vervuiling van het monster door het varende schip hoefden wij niet bang te zijn, daar de opzuigopening voor de boeg van het schip was gelegen.

3.2. Het filtereren

Het gebruik van gewone filters stuit op enige bezwaren. Niet alleen verandert de weerstand van het filter voortdurend door het aangevoerde slib, maar bovendien kan een koperarm monster uit eerder aangekomen koperrijk slib, koper onttrekken.

Wij konden echter, gebruik makend van de overvloedige hoeveelheid monster die ter beschikking stond, een filtersysteem ontwikkelen, dat deze bezwaren niet heeft. Het bezit een zeer groot filterend oppervlak. Daar het neergeslagen slib van het filter wordt weggewassen, neemt de weerstand slechts in zeer geringe mate toe en wordt onderlinge verontreiniging van de monsters vermeden.

Wij vervingen in een dialysator van de AutoAnalyzer het membraan door een schijf filtreerpapier (Schleicher & Schüll nr. 597).

Figuur 1 geeft een schematische voorstelling van de constructie van het filterapparaat.

Het slibhoudend water pompten wij door het spiraalvormige kanaal onder het filtreerpapier. Het kanaal boven het filtreerpapier werd aan één zijde afgesloten. Het andere einde van dit kanaal werd met de AutoAnalyzerpomp verbonden, zodat vloeistof door het filtreerpapier heen in het bovenste kanaal werd gezogen. De onderste, slibhoudende stroom maakten wij zo snel dat het afgefilterde slib van het filtreerpapier werd weggewassen, vóórdat het zich daar kon afzetten, als gevolg waarvan de filtercapaciteit zou dalen.

3.3. De analyse

De bepaling van koper in water wordt door het Centraal Laboratorium TNO uitgevoerd volgens een automatische analysemethode, die werd ontwikkeld in 1967. In de jaren daarna werd nog een aantal verbeteringen aangebracht. Voor de uitvoering van de analyse wordt gebruik gemaakt van de AutoAnalyzer van de firma Technicon. De onderdelen, nodig voor de bepaling van koper, zijn:

- a. een monsternemer type II. De gekozen analysesnelheid is twintig monsters per uur; monsternametijd is dan 1 minuut en de spoeltijd 2 mi-

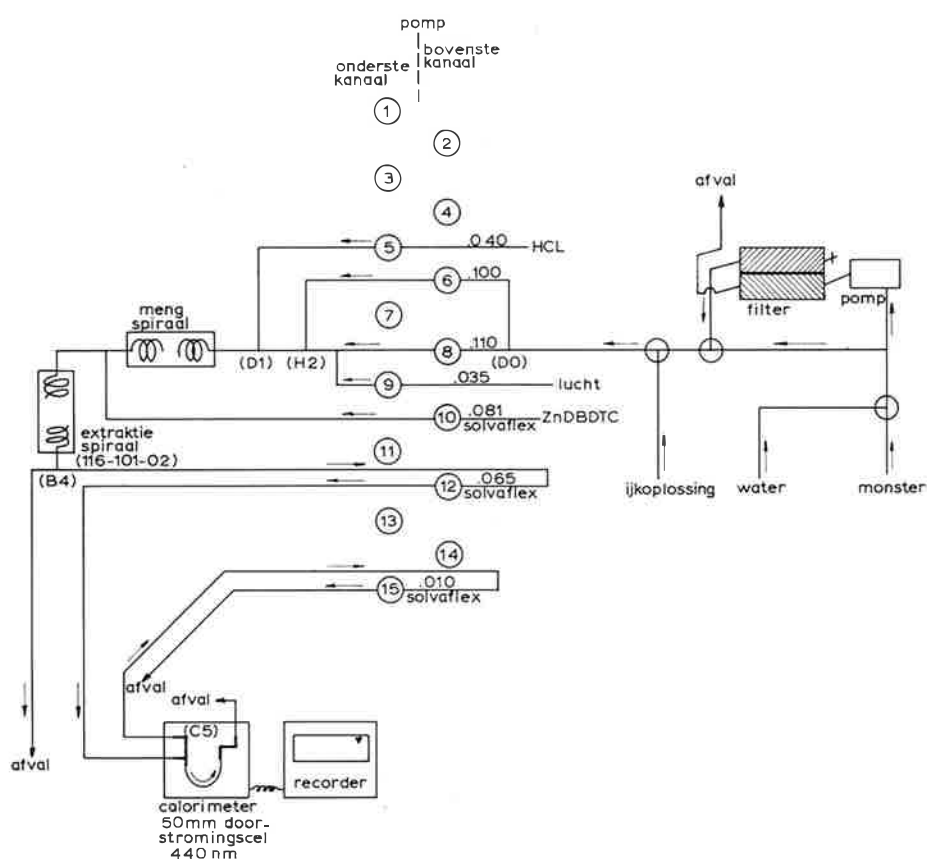


Fig. 2.

Analyseschema voor de continue en automatische bepaling van koper in gefiltreerd water.

Analysis scheme for the continuous and automatic determination of copper in filtered water.

nuten. Wanneer continu wordt bemonsterd, zoals dat bij een vaartocht het geval is, wordt de monsternemer niet gebruikt;

- b. een proportionele pomp type II met twee snelheden;
- c. een mengspiraal, lengte ca. 85 mm, inwendige diameter ca. 2,5 mm, gevuld met glazen kralen met de diameter van ca. 1,5 mm; deze heeft tevens de functie van extractiespiraal;
- d. een filtercolorimeter. De doorstroomcel heeft een optische weglengte van 50 mm. Het toegepaste interferentiefilter heeft zijn transmissie bij 440 nm;
- e. een elektronische versterker die het signaal van de colorimeter tien maal versterkt doorgeeft naar
- f. een recorder. Deze schrijft de extinctie veroorzaakt door de monsters, de standaardkoperoplossingen en de blanco's;
- g. een filtreerapparaat zoals beschreven onder 3.2. Dit wordt gebruikt tijdens vaartochten, indien het water vóór de analyse dient te worden gefiltreerd;
- h. een pomp voor de voeding van het filtreerapparaat met niet-gefiltreerd water.

Het analyseschema, dat wordt toegepast voor de bepaling van koper in een continu te bemonsteren stroom water, wordt weergegeven in figuur 2. Korthedshalve wordt voor de beschrijving van het schema verwezen naar een vorige publikatie [4].

Tijdens de beschreven vaartochten werd hoofdzakelijk zoet water, een aantal malen echter ook zout water geanalyseerd. De gevonden gehalten aan koper kunnen volgens het hier toegepaste analyseschema echter zonder beperking met elkaar worden vergeleken. Laboratoriumproeven hebben namelijk aangetoond dat het analyseresultaat niet afhankelijk is van de matrix, zoet of zout water, waarin het koper zich bevindt.

4. Uitgevoerde vaartochten

Voor het verkrijgen van een overzicht van de koperconcentraties in de Nederlandse wateren, werden vier vaartochten ondernomen.

In mei 1969 maakten wij een ééndaagse oefentocht over de Waddenzee. Er was één analyseapparaat aan boord. In het niet-gefiltreerde zeewater vonden wij een verrassend hoog kopergehalte.

In november 1969 maakten wij een vaartocht door midden- en zuidwest-Nederland en op de Schelde in België. Ook bij deze gelegenheid werd met één apparaat geanalyseerd. Tijdens de eerste helft van de tocht werd niet gefiltreerd, daarna filterden wij de monsterstroom. Hier en daar werden uitzonderlijk hoge koperconcentraties gemeten.

In december 1970 maakten wij een tocht, waarbij

wij met twee analyseapparaten continu en gelijktijdig aan gefiltreerd en ongefiltreerd water maten. Op deze wijze kregen wij een indruk van de hoeveelheid aan slib gebonden koper. Deze hoeveelheid is geenszins te verwaarlozen (zie tabel I). De absolute hoeveelheden zijn echter alleen bij benadering bekend omdat slechts een gedeelte van het aan slib gebonden koper in de analyse meedoet en bovendien de slibconcentratie van plaats tot plaats sterk kan verschillen. Gedurende de gehele vaartocht vond ook regelmatig discontinue bemonstering plaats. Er werden steeds vier monsters tegelijk genomen. Twee daarvan werden gefiltreerd. Eén gefiltreerd en één niet-gefiltreerd monster werden aangezuurd. Van iedere monsterplaats kwamen daardoor vier monsters, op verschillende manier geconditioneerd, beschikbaar.

In mei 1971 werd in opdracht van het Rijks Instituut voor de Zuivering van Afvalwater een vaartocht gemaakt door zuidwest Nederland. Bij deze tocht lag de nadruk op de Zeeuwse wateren. Daar werden plaatselijk hoge koperconcentraties aangetroffen. De tocht werd uitgevoerd met één Auto-Analyzer aan boord van het schip. Gedurende de gehele tocht werd alleen gefiltreerd water onderzocht.

Voor de eerste drie vaartochten genoten wij de gastvrijheid van het Nederlands Instituut voor Onderzoek van de Zee, aan boord van hun onderzoekingsvaartuig Ephyra.

Voor de laatste tocht waren wij gast aan boord van het onderzoekingsvaartuig van RIZA, de „Dr. L. F. Kamps”.

5. Discussie van de resultaten

Tijdens de oefentocht gedurende één dag in mei 1969 op de Waddenzee vonden wij in niet-gefiltreerd water een onverwacht hoge koperconcentratie van 27 microgram per liter.

De vaartochten, die daarna werden ondernomen, leverden als gevolg van hun veel langere duur (2 of 3 weken) veel analyseresultaten op, die omwille van de beknoptheid niet alle zullen worden weergegeven.

In de tabel zijn de gemiddelden van de bij de verschillende vaartochten behorende resultaten over een aantal bevaren waterwegen bijeengebracht. Uit de er achter tussen haakjes vermelde laagste en hoogste concentratie, die in de betrokken waterweg werd gemeten, zijn gevolgtrekkingen te maken over de al of niet symmetrische verdeling van de kopergehalten, met andere woorden over het al of niet voorkomen van plaatselijke kopercontaminaties. Dit treedt in een aantal gevallen op, waarbij dit soms zo duidelijk is, dat die waarden niet in de middeling werden betrokken en als uitschieters apart worden genoteerd (de gekursiveerde getallen). De waarde > 1000 microgram koper per liter niet-gefiltreerd water, die werd gevonden in het

Ketelmeer tijdens de vaartocht van november 1969, is daarbij beslist opmerkelijk.

Ook het als uitschieter gegeven kopergehalte van 203 microgram per liter gefiltreerd water, gevonden in het Kanaal door Walcheren gedurende de vaartocht van mei 1971, dient te worden vermeld. Hoewel het hier om een momentopname gaat, kan men echter toch wel op deze wijze scherpe indicaties verkrijgen over specifieke bronnen van verontreiniging. De gevonden uitschieterende waarde kon b.v. in het laatste geval met een bepaalde puntlozing in verband worden gebracht.

Een vergelijking van de tijdens de vaartocht van

december 1970 verkregen analyseresultaten voor gefiltreerd water met die voor niet-gefiltreerd water, levert een indruk omtrent de verlaging van het gevonden kopergehalte als gevolg van het filtreren. Dit effect blijkt ca. 40% te zijn. Wij kunnen derhalve ruwweg stellen dat 40% van het gevonden koper aan het slib is gebonden. In werkelijkheid hangt dit percentage sterk af van de koperconcentratie in het filtraat. Naast het kopergehalte van het slib hangt het ook van de aard en de hoeveelheid slib en de bindingstoestand van het koper daarin af.

In figuur 3 wordt deze discrepantie gedemon-

Tabel.

Tijdens vaartochten gevonden koperconcentraties in het bevaaren water, automatisch en continu bepaald door middel van AutoAnalyzers.

Table.

Copper concentrations in Dutch waterways, as determined during cruises by automatic and continuous analysis with AutoAnalyzers.

waterway	cruise November 1969	cruise December 1970		cruise May 1971
	mean copper concentration in μ grammes/litre	mean copper concentration in μ grammes/litre		mean copper concentration in μ grammes/litre
		unfiltered water	unfiltered water	
IJsselmeer	7(3-16) [*] 40 ^{**} , > 1000	17(6-27)	12(5-17)	
Amsterdam-Rijnkanaal	27(26-28)	20(17-23) 40	15(11-17)	20(17- 23)
Lek	19(14-25)	14(9-18)	9(8-11)	17(9- 24)
Nieuwe Waterweg	12(9-24) > 50	10(—)	7(6- 8)	
Noord	13(10-18) 23			15(13- 15)
Dordtse Kil	17(—)			14(5- 18)
Nieuwe Merwede	25(—)	18(13-27)	8(8- 9)	6(5- 9)
Amer-Bergse Maas	19(12-24)	12(10-15)	9(8-13)	5(2- 9)
Westerschelde	11(4-26) 40, 46			
Holl. Diep-Haringvliet	10(—)	13(10-17)	9(7-11)	16(16- 17)
Beneden Merwede	17(16-19)			10(6- 14)
Noordhollands Kanaal	10(7-12)			
Waddenzee		21(18-24)	21(14-32)	
IJssel		38(25-48)	14(11-15)	
Pannerden's Kanaal		45(44-46)	14(13-14)	
Waal		27(16-35)	15(9-19)	40(20- 50)
Noordzee vóór Voorne		12(5-20)	11(10-12)	
Nieuwe Maas		11(8-15)	10(8-12)	10(9- 12)
Spui				9(9- 11)
Oude Maas				16(15- 17)
Volkerak-Krammer	9(—)			10(4- 16)
Zijpe-Keeten				7(6- 9)
Oosterschelde				11(9- 13)
Veerse Meer				24(20- 28)
Kanaal door Walcheren				145(107-177) 203

^{*}) De tussen haakjes geplaatste getallen geven de laagste en de hoogste gevonden koperconcentraties weer. The figures in parentheses are, respectively, the lowest and the highest concentrations found.

^{**}) De kursiefgedrukte getallen zijn plaatselijk voorkomende hoge koperconcentraties die niet bij de middeling werden betrokken. The italic figures represent extreme copper concentrations found locally. They were not used in determining the mean concentrations.

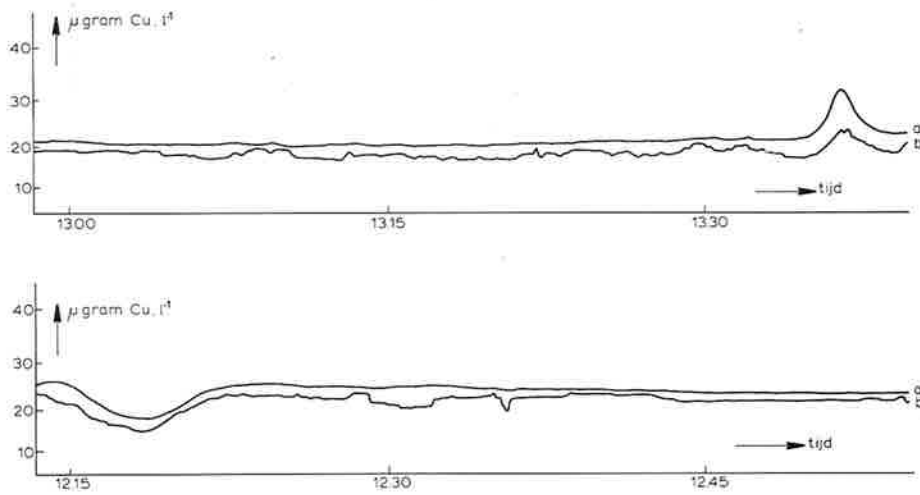


Fig. 3.

Verloop van de koperconcentratie tijdens de vaart op het Ketelmeer op 1 december 1970.

Lijn a geeft het aantal µgrammen koper per liter niet-gefiltreerd water, lijn b geeft hetzelfde voor gefiltreerd water.

Copper concentration as a function of time during a cruise on the Ketelmeer on 1st December 1970.

Curve a represents the copper concentration in unfiltered water, and curve b that in filtered water.

The figures 4, 5 and 6 give the copper concentrations in a number of waterways, automatically and continuously determined during cruises respectively in November 1969, December 1970 and May 1971.

De figuren 4, 5 en 6 geven de koperconcentraties in verschillende waterwegen, automatisch en continu bepaald gedurende vaartochten respectievelijk in november 1969, december 1970 en mei 1971.



o o o o 1-15 µ gram Cu.l⁻¹
 x x x x 16-30 "
 - - - - 31-45 "
 + + + + > 45 "

Fig. 4.

Het water werd vóór de analyse meestal niet gefiltreerd.
 As a rule the water was not filtered before analysis.



o o o o o 1-15 µ gram Cu.l⁻¹
 x x x x x 16-30 "

Fig. 5.

Het water werd vóór de analyse gefiltreerd.
 The water was filtered before analysis.



Fig. 6.

*Het water werd vóór de analyse gefiltreerd.
The water was filtered before analysis.*

streerd voor de vaartocht in het Ketelmeer op 1 december 1970.

De bovenste recorderuitslag geeft de koperconcentratie in niet-gefiltreerd water, de onderste uitslag die in gefiltreerd water weer. De beide lijnen blijven ook gedurende langere tijd redelijk evenwijdig lopen.

De analyseresultaten, afkomstig van de tijdens de

vaartocht van december 1970 uitgevoerde discontinue bemonstering, kwamen goed overeen met die van de continue bepalingen, indien de wachttijd voor de monsters korter dan 12 uur wordt gehouden. Bij langere wachttijden begint de veroudering van de monsters merkbaar te worden. Voor niet-aangezuurde monsters treedt in het algemeen een verlaging van het kopergehalte op. Voor aangezuurde, gefiltreerde monsters treedt een geringe verlaging, doch voor aangezuurde, niet-gefiltreerde monsters vaak een verhoging van het gevonden kopergehalte op.

Het is bijzonder illustratief om de koperconcentraties, zoals die tijdens vaartochten zijn gevonden, te verwerken in een koperkaart. Reeds eerder kozen wij daarvoor een vaartocht waarbij over het algemeen niet-gefiltreerd water werd geanalyseerd [1]. Deze kaart is weergegeven in figuur 4. Ook de resultaten van de vaartochten van december 1970 en mei 1971 door midden- en zuidwest-Nederland, zijn zo weergegeven, respectievelijk in de figuren 5 en 6. De kaarten blijken een grote mate van overeenkomst te vertonen. Men zou er uit kunnen destilleren dat een koperconcentratie van ca. 20 microgram per liter „normaal” is.

Literatuur

- [1] Brouwer, W., Technicon Symposium Frankfurt 1971: Die automatische Bestimmung von Kupfer in holländischen Gewässern (CL-Mededeeling nr. 442)
- [2] Koch, O. G. & Koch-Dedic, G. A. Handbuch der Spurenanalyse (1964), 515
- [3] Persoonlijke mededeeling van Dr. A. J. de Groot, Instituut voor Bodemvruchtbaarheid te Haren (Gr.)
- [4] Brouwer, W., TNO-Nieuws (1970) 25, 297-302; De automatische bepaling van het gehalte aan koper in water van de Waddenzee, met behulp van een Auto-Analyzer.

Analyse van koper en andere metalen in het milieu

Analysis of copper and other metals in the environment

Dr. C. PRIES

Centraal Laboratorium TNO, Delft

Samenvatting

Dit inleidend artikel schetst enkele analytische methoden en vergelijkt ook hun aspecten van specifieke bruikbaarheid.

Summary

A short review is given on the four routine techniques available for the analysis of heavy metals — especially copper — in our environment, viz. emissionspectrometry, activation analysis, atomic absorption and automatized classical analyses. In choosing a particular technique its sensitivity, accuracy, reproducibility and costs are determining factors, along with the nature and the amounts of the samples available.

Voor de bepaling van koper en andere metalen in ons leefmilieu staan de analytici vele mogelijkheden ter beschikking; in ons laboratorium zijn hiervoor emissiespectrometrie, activeringsanalyse, atomaire absorptie en min of meer geautomatiseerde klassieke methoden in gebruik.

Dat hiervoor in één laboratorium naast elkaar vier technieken worden gebruikt, wijst er al op, dat elk van deze technieken speciale aspecten biedt, zodat voor ieder probleem de aangewezen methode kan worden gekozen.

Tabel I geeft een globaal overzicht van deze aspecten. De keuze van de methode hangt sterk af van het te bepalen metaal. Zo is de activeringsanalyse zeer geschikt voor de bepaling van koper

en kwik, maar niet voor de bepaling van lood. De emissiespectrometrie geeft voor de analyse van lood geen problemen, de bepaling van kwik daarentegen levert hier onoverkomelijke moeilijkheden op. In tabel II worden de drie genoemde instrumentele technieken qua mogelijke gevoeligheid met elkaar vergeleken. Behalve de soort metaal speelt ook de aard en grootte van het monster, waarin men dit metaal wil bepalen, een grote rol bij de keuze van de analysetechniek.

De activeringsanalyse heeft het voordeel dat in beginsel non-destructief kan worden gemeten (voor concentraties vanaf 0,1 ppm). Bij lagere concentraties is destructie en voorscheiding nodig. De me-

Tabel I. Vergelijking van een aantal aspecten van de methoden voor metaalanalyse, in gebruik bij het CL-TNO.

algemene aspecten:	activeringsanalyse	atomaire absorptie	emissiespectrometrie	klassiek-autoanalyser
nodige investeringen $\times f$ 1.000,—	100-500	15-60	35-250	30-70
opleiding operator	maanden	weken	~ 1 maand	weken
onderhoud door:	specialist	eigen beheer	specialist	eigen beheer
informatie	meerdere elementen	1 element tegelijk	vele elem. simultaan.	1 element tegelijk
automatiseerbaarheid	zeer goed	goed	half-automat	obligaat
kosten per monster (relatief)	hoog	laag	middelmatig	zeer laag
<i>chemische aspecten:</i>				
relatief	10^{-7} - 10^{-11}	10^{-6} - 10^{-8}	10^{-5} - 10^{-7}	10^{-7} - 10^{-9}
detectiegrens absoluut	0,01-100 μ g	0,1-10 μ g	1-100 μ g	~ 1 μ g
dupliceerbaarheid	redelijk	goed	goed	zeer goed
reproduceerbaarheid in ppm range	goed	goed	redelijk	goed
reproduceerbaarheid in ppb range	matig	redelijk	redelijk	goed
ontsluiting nodig in ppm range	nee	ja	verassing gedeeltelijk	ja
ontsluiting nodig in ppb range	ja	ja	verassing ~ geheel	ja

Tabel II. Laagste concentraties (in $\mu\text{g/kg}$) van veel voorkomende giftige metalen die nauwkeurig te bepalen zijn door middel van instrumentele analysemethoden.

element	atomaire absorptie	activerings-analyse	emissie-spectrometrie
koper	40	5	1
kwik	1	$1/2$	+))
lood	120	+))	30
cadmium	11	10	700
zink	10	$1/2$	100
arseen	800*)	$1/2$	700
beryllium	40	—	10

+) methode niet geschikt.

*) methode minder geschikt.

thode is dan, in tegenstelling tot de beide andere instrumentele technieken, ook geschikt voor de bepaling van de meer vluchtige elementen als kwik, arseen, antimoon en seleen. Bij grote aantallen monsters is automatisering van de destructie en voorscheiding (destillatie) noodzakelijk en mogelijk. Er wordt dan een aanvaardbare kostprijs bereikt.

Atomaire absorptie is zeer geschikt voor snelle analyse van grote series oplossingen in water. Deze methode is verregaand geautomatiseerd. De meeste aangeboden monsters moeten echter door ontsluiting worden omgezet tot homogene oplossingen in water. Deze ontsluitingen zijn niet altijd

even eenvoudig en zijn niet gemakkelijk te automatiseren.

Emissiespectrometrie is de minst gevoelige van de drie instrumentele methoden. Voorconcentratie van het monster is daarom vaak vereist. Bij biologisch materiaal gaat dit goed in de zogenaamde „koude verasser”. Het materiaal wordt onder verminderde druk met reactieve zuurstof (singulet zuurstof) bij lage temperaturen verbrand. De emissiespectrometrische analyse van biologisch materiaal en de automatisering van deze methode wordt beschreven in het artikel van Houpt (blz. 452 van dit nummer).

De klassieke methoden zijn nog geenszins door de instrumentele technieken verdrongen. Door automatisering hebben zij zelfs aan belang gewonnen wegens de verhoogde nauwkeurigheid en de uitstekende reproduceerbaarheid van de handelingen. Er kunnen dan tegen een aanvaardbare prijs enorme hoeveelheden monsters worden verwerkt. Brouwer en Van Hooven beschrijven in dit nummer (blz. 444) de continue bepaling van koper in water aan boord van een varend schip. Zo werd een overzicht verkregen van het concentratieverloop van koper in diverse waterwegen van Nederland.

Naast deze routinematig in gebruik zijnde technieken zijn in het Centraal Laboratorium elektroanalytische methoden in ontwikkeling, waaronder de potentiometrie met ion-selectieve elektroden en de extreem gevoelige „anodicstripping”-voltammetrie. Met de laatstgenoemde methode kunnen zeer veel metalen in één analysegang worden bepaald.

Emissiespectrochemische bepaling van geringe hoeveelheden koper en andere elementen in biologisch materiaal

Emissionspectrochemical determination of trace amounts copper and other elements in biological material

P. M. HOUPTE en B. J. TORRENGA

Centraal Laboratorium TNO

Samenvatting

Na een tweetal inleidende hoofdstukken over de emissiespectrochemische analyse en de toepassingen daarvan wordt een overzicht gegeven van de in het CL-TNO ontwikkelde methode voor emissiespectrochemische bepalingen in biologisch materiaal. Nadat in de normale spectrochemische analysemethode enige veranderingen waren aangebracht, werd het mogelijk biologisch materiaal te analyseren op een tiental sporelementen, uitgaande van tenminste 125 milligram nat materiaal. De voor deze analysemethode noodzakelijke monstervoorbereiding, opnametechniek en verwerking van de meetgegevens passeren de revue; enige aandacht wordt geschonken aan de automatisering van enige onderdelen van de analyseprocedure.

Summary

After two introductory chapters about spectrochemical analysis and its applications, a survey is given of a method developed at the Central Lab. TNO, for spectrochemical determinations in biological materials. By changing the conventional spectrochemical method in two aspects, it became possible to determine about 10 trace elements in biological materials, starting from at least 125 mg of wet material. The sample preparation, exposure technique and evaluation of the measured spectra are reviewed. A description is given of the automation of some parts of the analytical procedure.

1. Principe van de emissiespectrochemische bepaling

Vele stoffen doen een lichtverschijnsel ontstaan als zij in een vlam worden gebracht. Kirchhoff en Bunsen onderzochten dit verschijnsel door een kleine hoeveelheid van een oplossing, die een te onderzoeken stof bevatte, in een vlam te brengen en het uitgezonden licht met een spectroscop waar te nemen. Reeds in 1859 stelden deze onderzoekers vast, dat de samenstellende golflengten van het uitgezonden licht karakteristiek zijn voor ieder element, met andere woorden, het spectrum van het uitgezonden licht is element-specifiek.

Dit verschijnsel kon pas worden verklaard nadat in 1914 de Deense fysicus Niels Bohr zijn atoomtheorie had opgesteld. Deze theorie gaat er van uit dat een elektron in het atoom slechts in verschillende, zeer bepaalde discrete energietoestanden kan verkeren. Onder normale omstandigheden bevindt dit elektron zich in de laagste energietoestand, de z.g. grondtoestand. Wordt nu energie aan het atoom toegevoegd, dan „springt” het elektron in een toestand met een grotere energie, die echter niet stabiel is, zodat na zeer korte tijd het elektron weer terugkeert naar de grondtoestand. Het verschil in energie tussen de twee toestanden, dat karakteris-

tiek is voor elk type atoom, wordt als straling met een zeer bepaalde frequentie of golflengte uitgezonden. Dit eenvoudige beeld wekt de verwachting dat door een atoom slechts één enkele golflengte kan worden uitgezonden; dit is echter niet juist. Als gevolg van de ingewikkelde bouw van het atoom zijn vele energietoestanden mogelijk, zodat de meeste emissiespectra uit vele honderden spectraallijnen zijn opgebouwd, waarvan de intensiteiten onderling sterk kunnen verschillen.

Reeds vrij spoedig na de ontdekking dat dit spectrum kon worden gebruikt voor een kwalitatieve analyse, werd het duidelijk dat met deze methode ook een kwantitatieve analyse kon worden uitgevoerd. Brengt men namelijk oplossingen die verschillende concentraties van een bepaald element bevatten, in de vlam, dan blijkt de intensiteit van de spectraallijnen evenredig met de concentratie toe te nemen.

De vlam werd in de loop van de tijd vrijwel geheel verdrongen door effectievere excitatiebronnen, zoals de elektrische boog- en vonkontladingen. Slechts voor de kwantitatieve bepaling van alkali-metalen wordt de vlam nog veelvuldig onder de naam van vlamfotometrie toegepast. De relatief lage temperatuur van de vlam in vergelijking met de boog- of vonkontlading is voor de bepaling van

deze elementen juist van bijzonder voordeel, omdat bij een hogere temperatuur een te sterke ionisatie van de alkali-atomen optreedt, hetgeen ten koste gaat van de intensiteit van de gewenste spectraallijnen.

2. Toepassingen van de emissiespectrochemische analyse

Van de vele en gevarieerde analytische toepassingen van de emissiespectroscopie is het gebruik in de metaalindustrie ongetwijfeld het meest verbreid. In deze industrietak heeft het de conventionele chemische analyse praktisch geheel vervangen. Met een moderne emissiespectrometer waarbij de intensiteiten van de voor het beoogde doel geschikte spectraallijnen foto-elektrisch worden gemeten en de meetgegevens met computers tot concentraties van de te bepalen elementen worden verwerkt, is het mogelijk in minder dan één minuut 20 tot 30 elementen nauwkeurig kwantitatief te bepalen. De medaille heeft echter een keerzijde. De specia-

lisatie van de instrumenten op een bepaald voor de industrie belangrijk analytisch probleem heeft de flexibiliteit van de methode sterk verminderd. Dit heeft tot gevolg gehad, dat ondanks het in gebruik zijn van vele duizenden moderne emissiespectrometers in de wereld, de methode met betrekking tot de overige niet-industriële toepassingen nog tamelijk onbekend is. Uit de resultaten die zijn verkregen in diverse laboratoria kan men afleiden dat juist voor de bepaling van meerdere elementen in biologisch materiaal de methode zeer geschikt is, want de monsterverwerking is niet zeer arbeidsintensief en bovendien is een aantal handelingen goed te automatiseren; de bepaling van de verschillende elementen geschiedt simultaan uit één — geringe — hoeveelheid monster; de spectra blijven bewaard, zodat bijvoorbeeld achteraf gezien kan worden welke andere, in eerste instantie niet bepaalde elementen in meetbare hoeveelheden voorkomen.

Bij een juiste monstervoorbehandeling, gecombineerd met een voor het betreffende materiaal op-

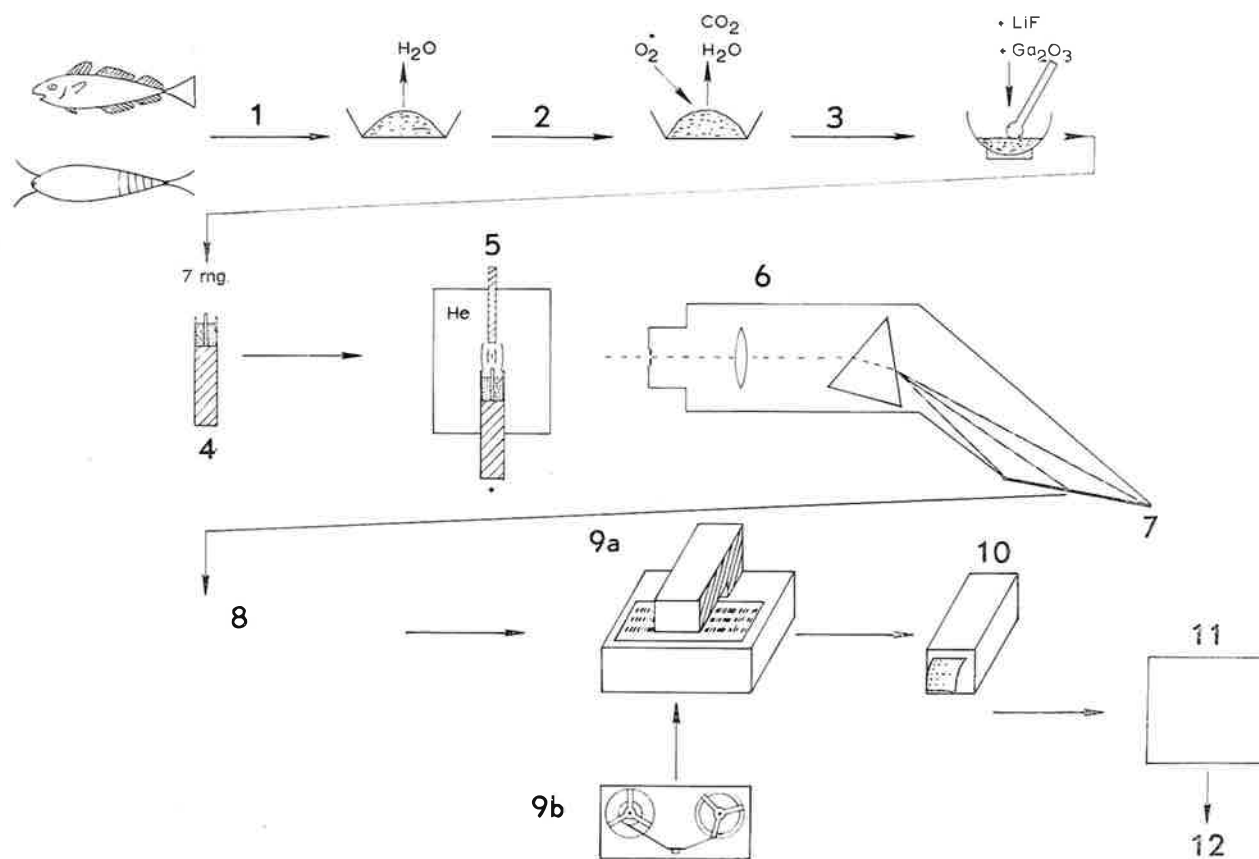


Fig. 1. Het verloop van de analyse schematisch weergegeven:

Op de bovenste regel van links naar rechts de monstervoorbereiding, daaronder de opname op de fotografische plaat, daaronder de verwerking van de gemaakte spectra en de daarvan afgelezen meetgegevens.

Schema of the analysis.

On the first line from left to right the preparation of the sample; on the next lines, the exposure of the photographic plate, the evaluation of the spectra taken, and the measuring data read from them.

1. Drying. 2. Cold ashing. 3. Mixing. 4. Graphite electrode. 5. Electric arc. 6. Spectrograph. 7. Photographic plate. 8. Photographic processing. 9a. Measurement of image density. 9b. Magnetic tape control unit. 10. Punched tape. 11. Computer. 12. Analytical results.

timale analysetechniek is het mogelijk emissiespectrochemisch in enkele milligrammen monster meer dan 10 spoorelementen kwantitatief te bepalen.

3. Bepaling van spoorelementen in biologisch materiaal

Zoals in figuur 1 schematisch is weergegeven, kan de gehele analyseprocedure in drie onderdelen worden verdeeld.

- a. De monstervoorbereiding.
- b. Het opwekken van het emissiespectrum en het fotografisch vastleggen daarvan.
- c. Het meten van het spectrum en de verwerking van de meetgegevens.

3.1. De monstervoorbereiding

In tegenstelling tot veel in de literatuur beschreven methoden, wordt door ons geen voorconcentratie van de te bepalen elementen uitgevoerd. Het risico van contaminatie door de gebruikte reagentia e.d. is altijd bijzonder groot, als concentratiemethoden zoals extractie — coprecipitatie of ionenuitwisseling worden toegepast. Bovendien zijn deze voorconcentratieprocedures vrij arbeidsintensief en staan de verwerking van grotere aantallen monsters in de weg. Bij de door ons gevolgde methode wordt het biologisch materiaal eerst gedroogd en daarna „koud verast” in een stroom geactiveerde zuurstof. Het verassen in geactiveerde zuurstof voorkomt, dat het materiaal zo heet wordt dat de vluchtige elementen zoals lood en zink verdampen. Omdat de verhouding natgewicht tot asgewicht ca. 25 : 1 bedraagt, stijgt de concentratie aan de te bepalen elementen met een factor 25. De concentratie van de meeste spoorelementen is echter zo laag, dat een 25-voudige concentrering nog onvoldoende is om volgens de gebruikelijke spectrochemische methode een kwantitatieve analyse uit te voeren. Deze methode bestaat uit het verdampen van de totale inhoud van een grafietelektrode (5-10 milligram monster) in een elektrische boogontlading. Deze werkwijze veroorzaakt in het spectrum een relatief hoge achtergrondintensiteit en omdat de spectraallijnen op deze achtergrond gesuperponeerd zijn, een ongunstige signaal-ruis verhouding die de onderste detectiegrens negatief beïnvloedt.

Een veel betere lijn-achtergrondverhouding wordt bereikt als men niet de totale inhoud van de elektrode, maar alleen de spoorelementen in de boog verdampt. Hiertoe wordt een tweetal kunstgrepen toegepast. Bij gebruikmaking van de z.g. „carrierdestillation”-methode, die tot nu toe uitsluitend bij de analyse van zeer zuiver uraniumoxide werd toegepast, blijken de spoorelementen met behulp van de „carrier” galliumoxide in korte tijd uit de anorganische asmatrix te verdampen. Als men bovendien de boog laat branden in een edelgasatmosfeer

— in ons geval helium — bereikt men ondermeer dat de wanden van de grafietelektrode niet opbranden, zodat het monster niet met de zeer hete boogontlading in direct contact komt. Een zeer lage achtergrondintensiteit is het gevolg van bovengenoemde methoden. Het werd mogelijk een aantal elementen in het nanogramgebied (10^{-9} gram) kwantitatief te bepalen. Voor een volledige spoorelementanalyse is slechts 5 milligram materiaal nodig, zodat in principe 125 milligram nat biologisch materiaal daarvoor reeds voldoende is.

3.2. De spectrografische opname

Zoals wij hebben gezien, speelt de elektrische gelijkstroomboog een belangrijke rol bij het verkrijgen van de spectrografische opname. Het monster gemengd met carrier wordt in een speciaal gevormde holle grafietelektrode gebracht (anode) en op een afstand van 4 mm van een grafiettegenelektrode opgesteld (kathode). Na het ontsteken van de boogontlading wordt de anode tot ca. 2000°C verhit, bij welke temperatuur de spoorelementen verdampen en in de ruimte tussen de elektroden komen. In deze boogontlading tussen de elektroden heerst een temperatuur van ca. 5000°C , waardoor de atomen tot excitatie worden gebracht. Van het door de boogontlading uitgezonden licht wordt na dispersie in een roosterspectrograaf het analytisch belangrijke deel van het spectrum fotografisch vastgelegd.

Met opzet hebben wij hiervoor de fotografische detectie gekozen en niet de foto-elektrische meting. Is het spectrum fotografisch vastgelegd, dan kan men naar wens de elementen bepalen, dit in tegenstelling met de foto-elektrische detectie, waar vooraf een keuze van de elementen, die men wil bepalen, gedaan moet worden. Bovendien kan het spectrum worden bewaard, zodat men het later weer kan raadplegen.

Bij de foto-elektrische meting heeft men ook geen overzicht van de storingen in de nabijheid van de te meten spectraallijnen, hetgeen bij monsters met een wisselende matrixsamenstelling nogal eens een bezwaar kan zijn.

Eén fotografische plaat biedt plaats aan 30 spectra. Voor het opnemen van die 30 spectra werd een automatische elektrodenwisselaar gebouwd, die met 30 elektroden en 30 tegenelektroden kan worden gevuld. Nadat een spectrum is opgenomen, draait het apparaat een volgend elektrodenpaar in de opnamepositie.

De verbinding met de booggenerator is dan door sleepcontacten tot stand gekomen. Het ontsteken van de boog, het doordraaien van de elektrodenwisselaar en van de fotografische kamera, nadat de belichtingstijd is verstreken, en het opnieuw ontsteken van de boog wordt verzorgd door een commando-apparaat, dat in de gelijkstroombooggenerator is ingebouwd.

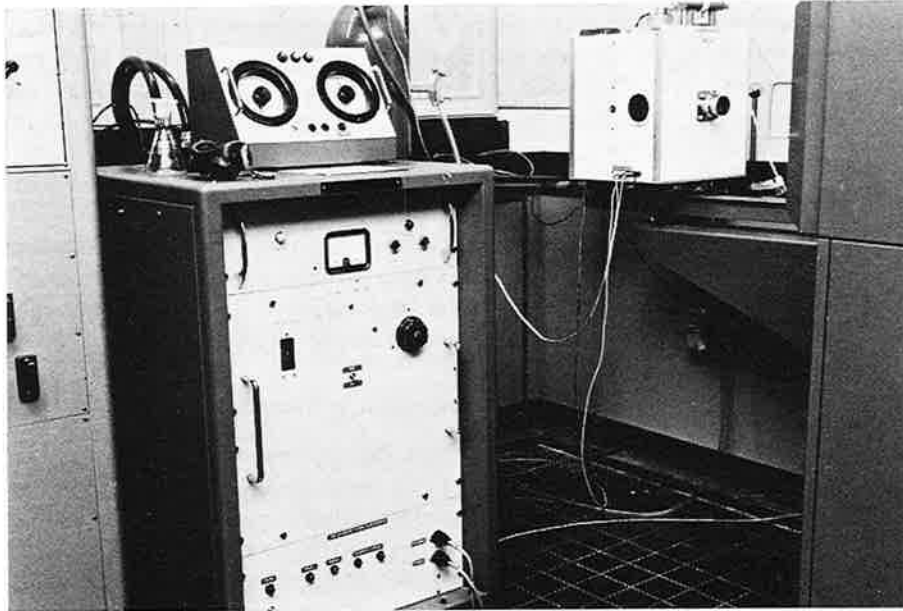


Fig. 2. De bij de analyse van biologisch materiaal gebruikte opstelling. Rechts de spectrograaf, in het midden de elektrodenwisselaar voor 30 elektroden, links de gelijkstroombooggenerator met de belichtingsklok erop en de automatische stureeenheid onderin.

Apparatus for the analysis of biological material.

On the right the spectrograph, in the middle the electrode exchanger for 30 electrodes, and on the left the direct current arc generator with the exposure timer on top and the automatic control unit in the bottom.

3.3. Het meten van de spectra en de verwerking van de meetgegevens

Zoals reeds vermeld biedt een fotografische plaat ruimte aan 30 spectra. Voor meting van de transmissie van de plaat ter plaatse van de analytisch interessante spectraallijnen wordt gebruik gemaakt van een microfotometer met magneetbandsturing. Het meten van een spectrum is een standaardprocedure, die op de magneetband kan worden opgenomen, zodat het apparaat zelf de metingen kan verrichten van de overige negenentwintig spectra op de plaat. Per gemeten lijn produceert het apparaat drie transmissiepercentages waarvan het middelste de minimale transmissie (dat is het zwartste gedeelte van de lijn) en de beide uitersten de achtergronden links en rechts van de lijn zijn. Alle getallen worden op een ponsband gezet en aan een geprogrammeerd rekentuing aangeboden.

Daar worden de zwartingen van de fotografische plaat omgerekend naar intensiteiten van straling (bij een fotografische plaat zijn zwarting en stralingsintensiteit niet recht evenredig), waarna de achtergrondintensiteit van de lijnintensiteit wordt afgetrokken. Op iedere plaat wordt een serie standaardmonsters mee opgenomen; het rekentuing berekent uit de lijnintensiteiten hiervan voor iedere gemeten spectraallijn een ijklijn. De intensiteiten van de spectraallijnen van de monsters worden op deze ijklijnen afgelezen, de hieruit verkregen concentraties worden gecorrigeerd voor de verhouding tussen asgewicht en drooggewicht, zodat uiteinde-

lijk de gehalten in het oorspronkelijk materiaal bekend zijn.

De tabel bevat een overzicht van de gemeten spectraallijnen met een aanduiding van het meetbare concentratiegebied.

Opgemerkt moet nog worden dat de aangegeven onderste detectiegrens niet steeds de laagst haalbare is; voor enkele elementen moest de gevoeligheid van de methode worden verminderd omdat in het biologisch materiaal steeds een hogere concentratie bleek voor te komen.

Tabel

Overzicht van enige van de te bepalen elementen met de bijbehorende meetbaarheidsgrenzen.

element	golflengte A	onderste meetbaarheidsgrens (ppm)	bovenste meetbaarheidsgrens (ppm)
cadmium	2265	5	> 2000
arseen	2350	15	> 1000
antimoon	2598	3	550
lood	2614/2833	1	300
chroom	3022	3	200
beryllium	3130	0,1	20
tin	3175	1	130
koper	3247/3274	1	150

De fysisch-chemische toestand van koper in zeewater

Physico-chemical state of copper in synthetic seawater

P. J. VAN DUIN

Centraal Laboratorium TNO

Samenvatting

Enkele anorganische koperzouten zijn onderzocht op hun oplosbaarheid in synthetisch zeewater van een bepaalde samenstelling.

Summary

The solubilities of various cupric complexes that can be formed in synthetic seawater have been estimated from literature data. From experiments with the cupric ion spe-

cific electrode, and from data on the complexing characteristics of ligands present, the solubility of simple inorganic cupric salts in synthetic seawater could be calculated. It appears that at a copper concentration of the order of 50 µg/l ($\sim 8 \times 10^{-7}$ molar) these solutions become saturated. At higher concentrations, the excess copper appears in the form of colloidal matter. Ultracentrifugation experiments have established the presence of the latter.

No attention could be paid in this paper to the important interaction of dissolved cupric species with silt.

Inleiding

Bij het onderzoek naar de invloed van toxische metalen op organismen doet zich de vraag voor in welke fysisch-chemische toestand het metaal aanwezig is in het milieu. Voor het geval van koper, dat door de groep Bionoordzee in dit laboratorium wordt bestudeerd, is nagegaan hoe een aan synthetisch zeewater toegevoegd eenvoudig koper(II)zout zich verdeelt over de verschillende oplosbare complexen die kunnen worden gevormd. Behalve deze complexen kunnen zich onder bepaalde omstandigheden ook onoplosbare verbindingen vormen waarvan de samenstelling en de eigenschappen nog maar ten dele bekend zijn. Onder deze laatste neemt het basische kopercarbonaat een belangrijke plaats in, zoals door Perry (1952) was opgemerkt (Odier, 1971). Deze stof speelt ook in zoet water een belangrijke rol (Stiff, 1971).

Wij hebben getracht een fysisch-chemische achtergrond te verschaffen voor verschijnselen die door biologen zijn waargenomen. Het belangrijkste hiervan is in dit verband, dat een met koper vergiftigde oplossing in de loop der tijd langzamerhand minder toxisch wordt. Dit is voor verschillende organismen waargenomen.

Bij ons onderzoek is gebruik gemaakt van synthetisch zeewater, dat in ons laboratorium op grote schaal wordt toegepast en waarvan de samenstelling in Tabel I is gegeven.

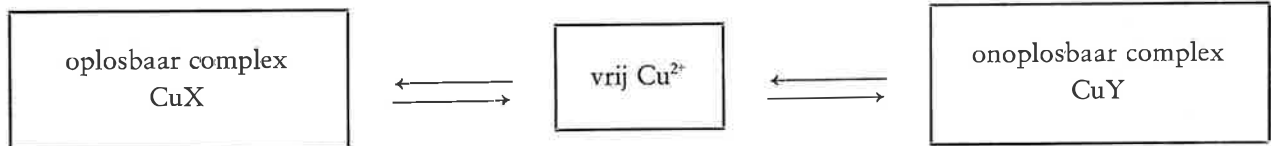
Het is van belang er reeds hier op te wijzen, dat de exacte resultaten van dit onderzoek niet zonder meer overdraagbaar zijn op echt zeewater, omdat met de aanwezigheid van slib en organisch materiaal geen rekening is gehouden. Bovendien zijn literatuurgegevens gebruikt die voor 25°C gelden, terwijl de activiteitscoëfficiënten van de afzonderlijke ionen, die gebruikt zijn, een onzekerheid bevatten.

Wanneer een eenvoudige anorganische koperverbinding (bijv. CuCl_2) aan synthetisch zeewater wordt toegevoegd, verdeelt dit zich over verschillende complexen in een mate die wordt bepaald door de concentraties van de hieraan deelnemende ionen of molekulen. Bij voortgaande verhoging van de koperconcentratie wordt een punt bereikt dat de oplossing is verzadigd aan koper en scheiden zich één (of meerdere) koperverbindingen af als vaste stof. Deze vaste stof kan neerslaan, indien daarvan maar voldoende wordt gevormd.

In bijgaand schema zijn de evenwichten die tussen de verschillende vormen bestaan, weergegeven.

Tabel I. Samenstelling synthetisch zeewater

kationen	concentratie (Mol/l)	anionen	concentratie (Mol/l)
Na	0.4695	F	6.8×10^{-5}
K	0.00997	Cl	0.546
Mg	0.0532	Br	8.4×10^{-4}
Ca	0.0104	I	3.0×10^{-6}
Sr	1.5×10^{-4}	SO ₄	0.028
		HCO ₃	0.0024
H ₃ BO ₃	4.5×10^{-4}	Ionensterkte	0.696



$$\frac{[\text{CuX}]}{[\text{Cu}^{2+}]} = \text{constant}$$

$$[\text{Cu}^{2+}] = \text{constant}$$

Bij de zeer kleine koperconcentraties die worden gebruikt, worden de concentraties van de deelnemende ionen nauwelijks beïnvloed en is de concentratie aan opgelost koper gelijk aan:

$$\text{opgelost koper} = [\text{Cu}^{2+}] + [\text{CuX}]$$

Een voorbeeld waaruit de complexerende werking van synthetisch zeewater duidelijk blijkt, is in fig. 1 gegeven, waar is weergegeven hoe de Cu^{2+} -concentratie in een $\text{Cu}(\text{NO}_3)_2$ -oplossing afneemt wanneer daaraan synthetisch zeewater wordt toegevoegd.

Onoplosbare complexen

Op grond van de samenstelling van synthetisch zeewater is bij overschrijding van een zekere Cu^{2+} -concentratie de vorming van de onoplosbare verbindingen te verwachten, die in tabel II volgens toenemende oplosbaarheid zijn gerangschikt (Sillén, Martell, 1964 en 1971).

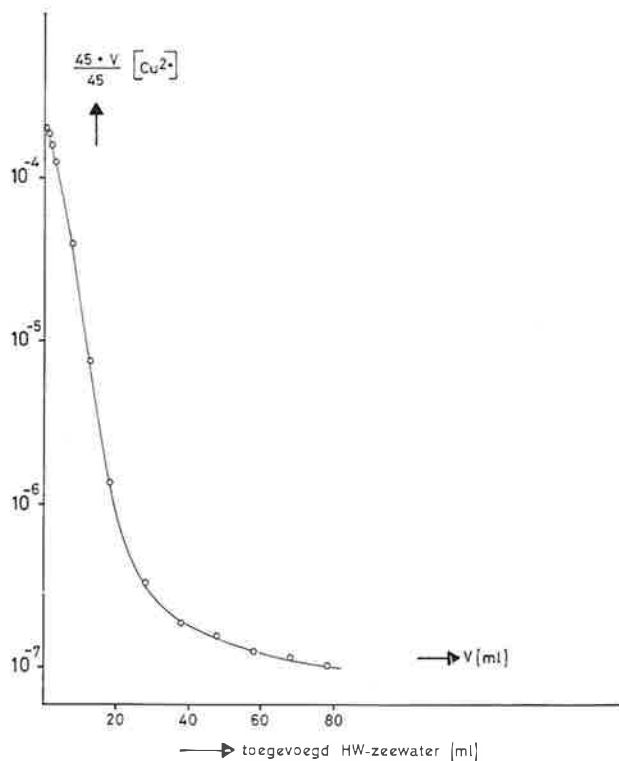
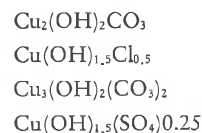


Fig. 1. Invloed van de toevoeging van HW-zeewater op de concentratie der Cu^{2+} -ionen in 2.10^{-4} M $\text{Cu}(\text{NO}_3)_2$. Beginvolume: 45 ml.

Tabel II. Slecht oplosbare kopercomplexen in synthetisch zeewater*



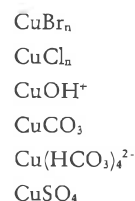
* De complexen die worden gevormd bij een veel hogere Cu^{2+} -concentratie blijven hier buiten beschouwing.

De Cu^{2+} -concentraties waarbij deze complexen worden gevormd ($2 \cdot 10 \times 10^{-8}$ Mol/l) liggen zo dicht bij elkaar, dat, met het gegeven, dat $\text{Cu}_2(\text{OH})_2\text{CO}_3$ zich slechts langzaam vormt (Stiff, 1971), kan worden verwacht dat bij overschrijding van de oplosbaarheid zich een mengsel van deze verbindingen zal afscheiden. Op de vorm zal later nog worden ingegaan.

Oplosbare complexen

De samenstelling van synthetisch zeewater geeft aanleiding tot het voorkomen van vele complexen; wij beperken ons tot die complexen die een significante hoeveelheid koper kunnen binden en laten de overige (en dat zijn er vele) buiten beschouwing.

Tabel III. Oplosbare kopercomplexen in synthetisch zeewater



De literatuurgegevens voor de chloor- en de broomcomplexen zijn zo uiteenlopend, dat met eigen metingen met behulp van een ion-specifieke koperelektrode de complexerende werking, uitgedrukt als $[\text{CuX}]/[\text{Cu}^{2+}]$ is bepaald. Voor de overige complexen zijn wel literatuurgegevens (Sillén, Martell, 1964, 1971) gebruikt. Uit de berekeningen blijkt, dat de som van de concentraties van deze complexen ongeveer 40 x zo groot is als de overblijvende Cu^{2+} -concentratie. De relatieve hoeveelheden zijn weergegeven in fig. 2.

De totale oplosbaarheid van koper in synthetisch zeewater blijkt volgens deze berekeningen ongeveer $50 \mu\text{g/l}$ ($\sim 8 \times 10^{-7} \text{ Mol/l}$) te bedragen. In de praktijk van diverse onderzoeken worden echter vaak veel hogere concentraties gebruikt, terwijl tevens regelmatige verbanden tussen vitale functies en de koperconcentratie worden gevonden. Een verklaring hiervoor kan zijn dat bij concentraties groter dan ongeveer $50 \mu\text{g/l}$ de noodzakelijk te vormen vaste stof moeilijk uitkristalliseert en men gedurende langere tijd met een oververzadigde oplossing te maken heeft. Van de verbinding $\text{Cu}_2(\text{OH})_2\text{CO}_3$ is, zoals gezegd, bekend dat deze stof zich zeer langzaam afscheidt bij oververzadiging. Het is natuurlijk tevens mogelijk, dat de te vormen vaste stof zich in colloïdale toestand bevindt en visueel niet waarneembaar is, wat bij de kleine hoeveelheden waar het hier om gaat, toch al moeilijk zal zijn. Beide aspecten zijn met behulp van de ultracentrifuge nader onderzocht.

Een oplossing van koperchloride in synthetisch zeewater werd gefiltreerd door een $0,12 \mu\text{m}$ millipore filter en het filtraat bevatte $385 \mu\text{g Cu/l}$. Vervolgens werd deze oplossing gecentrifugeerd in de ultracentrifuge, waarna de concentratie van de oplossing was afgenomen tot $310 \mu\text{g Cu/l}$. Dit wijst er op, dat zich in de gefiltreerde oplossing deeltjes met afmetingen kleiner dan $0,1 \mu\text{m}$ bevinden. De gefiltreerde oplossing werd hierna gedurende 10 dagen bewaard en opnieuw gecentrifugeerd; nu was de concentratie van deze oplossing afgenomen tot $250 \mu\text{g Cu/l}$, hetgeen er op wijst, dat zich bij het verouderen meer van de vaste stof vormt.

Een oplossing met een concentratie van $1600 \mu\text{g Cu/l}$, ten slotte, die 117 dagen werd bewaard, bevatte na centrifugeren nog slechts $100 \mu\text{g Cu/l}$, een getal, dat al behoorlijk dicht bij de berekende waarde van $50 \mu\text{g/l}$ komt.

Conclusie

Bij het oplossen van een koperzout in synthetisch zeewater verdeelt het koper zich over diverse oplosbare complexen. Indien meer wordt opgelost

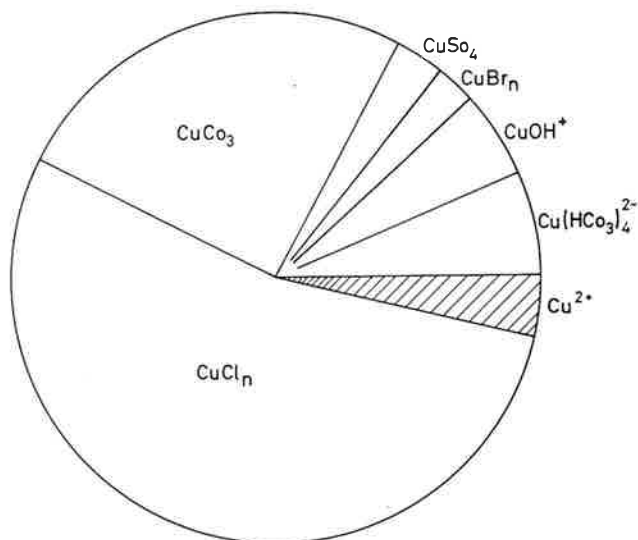


Fig. 2. Verdeling der verschillende oplosbare complexen.

dan ongeveer $50 \mu\text{g/l}$ moet rekening worden gehouden met de vorming van een colloïdaal verdeelde vaste stof die zich slechts langzaam vormt; de evenwichtstoestand wordt waarschijnlijk pas na maanden bereikt.

Literatuur

- M. Odier, V. Plichon: Le cuivre en solution dans l'eau de mer. *Anal. Chim. Acta* 55, 209 (1971).
- J. D. Perry; The Physical Chemistry of Compounds of Copper and their Interaction with Sea Water. U.S. Naval Inst., Annapolis, Md., Ch. 15 in *Marine fouling and its prevention*, 1952.
- L. G. Sillén, A. E. Martell: Stability constants of metal-ion complexes. Special publication No. 17, 1964, en idem, Supplement No. 1, special publication No. 25, 1971, The Chemical Society, London.
- M. J. Stiff: Copper/bicarbonate equilibria in solution of bicarbonate ion at concentrations similar to those found in natural water. *Water Research* 5, 171 (1971).
- The chemical states of copper in polluted fresh water and a scheme of analysis to differentiate them. *Water Research* 5, 585 (1971).

Voorkomen en toxiciteit van koper bij organismen in zoet- en zoutwater: een literatuurstudie

E. H. HUECK-VAN DER PLAS

Economisch Technische Afdeling TNO

(thans werkzaam bij Studie- en Informatiecentrum TNO voor het Onderzoek ten dienste van het Milieubeheer)

The occurrence and the toxicity of copper to organisms in freshwater and sea water: a literature study

Samenvatting

Een literatuurstudie werd verricht betreffende de toxiciteit van koper voor in water levende organismen. Het vóórkomen van koper in het zeewater en de toxiciteit voor verschillende groepen van organismen worden kort besproken. De toxiciteitsgegevens zijn in een tabel samengevat.

Summary

A literature survey on the toxicity of copper to aquatic organisms has been carried out. The occurrence of copper and its toxicity are discussed briefly. The toxicity data are summarized in a table.

1. Inleiding

In het kader van de studie van het Centraal Laboratorium TNO over de invloed van koper op in water levende organismen waarvan U de resultaten in dit speciale nummer van TNO-Nieuws vindt, is aan de Economisch-Technische Afdeling TNO verzocht een literatuurstudie over de giftigheid van koper uit te voeren. Deze literatuurstudie, die niet uitputtend is, is bij het Centraal Laboratorium TNO in rapportvorm aanwezig. Hierin worden de fysiologie, het vóórkomen en de toxiciteit van koper voor fytoplankton, zoöplankton en vissen beschouwd. In dit artikel worden ter wille van de beknoptheid de belangrijkste conclusies veelal zonder verdere verwijzing naar de literatuur, in het bijzonder waar het literatuurgegevens betreft die in de andere artikelen in dit nummer uitvoeriger worden besproken, weergegeven.

De toxiciteitsgegevens worden in een tabel samengevat.

2. Enkele gegevens over het vóórkomen van koper

Bij de bestudering van het voorkomen van koper in het milieu zijn verschillende aspecten te onderkennen: de herkomst, de concentratie in het water en in organismen, en de toestand waarin het koper aanwezig is. De herkomst van het koper wordt elders in dit nummer uitvoerig besproken (*Lageveen van Kuyk* 1972). De andere aspecten zullen hier kort belicht worden.

Atkins (1953) nam bij een onderzoek in het Engelse Kanaal een duidelijke seizoensvariatie van de koperconcentraties, vooral in het oppervlaktewa-

ter, waar: 0,0015 mg/l in de zomer tot 0,0248 mg/l in de winter. Op 50 m diepte was de concentratie 0,0183 mg/l. In het oppervlaktewater zou het koper gedurende de zomer door het plankton worden opgenomen.

Soortgelijk onderzoek is gedaan door *Chow & Thompson* (1954) in het San Juan Channel (Washington), waarbij zij gezocht hebben naar correlaties tussen enerzijds de concentraties van koper en enige andere spore-elementen en anderzijds een aantal oceanografische gegevens, zoals temperatuur, chloorgehalte, opgeloste zuurstof, anorganische fosfaten en silicaten. Zij vonden een inverse correlatie: dat wil zeggen een maximum voor koper in de zomer en voor de andere parameters in de winter. Het gemiddelde kopergehalte was 0,0014 mg/l (0,0010 mg/l - 0,0017 mg/l). Hoge koperconcentraties werden tijdens de zomer vooral waargenomen in het oppervlaktewater tijdens perioden met zeer stil weer en een zeer laag tij. Als verklaring voor de hoge zomerconcentraties beschouwen de auteurs een verhoogde aanvoer vanaf het land en een mobilisering van het gedurende de winter anaeroob gevormde CuS dat in modderbanken wordt neergeslagen.

Seizoensvariaties werden eveneens waargenomen langs de kust van Zuid-Afrika (*Leisegang & Orren*, 1966). Deze variaties correleerden met de mate van „opwelling” van het diepe oceanische water. Volgens de auteurs bevat tropisch oppervlaktewater 0,002 mg/l, het diepe oceanische water 0,017 mg/l. Deze verschillen in kopergehalte zouden zelfs gebruikt kunnen worden als indicator voor verschillende watermassa's. (*Leisegang & Orren*, 1966, *Godoy & Barth*, 1967).

Hoewel er nog weinig inzicht bestaat in de samen-

hang van de concentraties in het milieu en in de erin voorkomende organismen kan toch de concentratie in de organismen een indicatie zijn voor de aanwezigheid van bepaalde stoffen. Dit is in het bijzonder van belang omdat organismen velerlei stoffen in hun lichaam kunnen ophopen. Volgens *Martin* (1970) zou deze concentratie op verschillende manieren tot stand kunnen komen:

- door opname van gesuspenseerd materiaal waaraan metalen geadsorbeerd zijn,
- door opname via de voedselketen,
- door complexering aan daarvoor geschikte moleculen in het organisme,
- door inbouw in biologisch actieve systemen, of
- door uitwisseling met andere ionen in bijvoorbeeld slijmlagen of de celwand.

Ikuta (1968, a, b, c) heeft uitvoerig onderzoek gedaan over de opname en afgifte van koper door oesters die in gebieden met een hoge koperconcentratie zoveel koper in hun lichamen kunnen opnemen dat het vlees groen wordt. In de zee van Azov zijn door *Rozhanskaya* (1967) mangaan, koper en zink bepaald in plankton, benthos en vissen. Zij vond de volgende concentraties (tabel 1):

Tabel 1. Concentraties van koper in plankton, benthos en vissen in de zee van Azov

Organisme	concentratie in $\mu\text{B/g}$ drooggewicht
<i>Plankton</i>	
Copepoden	53-230
Copepoden	31-180
Coscinodiscus jonesianus	13- 19
Diatomeae (vnl. C. jonesianus en Thalassionema nitzchioides)	31-110
Blauwgroene algen (vnl. Microcystis aeruginosa)	28
<i>Benthos</i>	
Cardium edule	7
Syndesmya ovata	12
Hydrobia ventrosa	31
Mytilus galloprovincialis	6,9
Mytilaster lineatus	5,8
Monadacna colorata	9,2
Balanus improvisus	8,6
Nephtys hombergii	45
Nereis succinea	30
<i>Vissen</i>	
Benthophilus stellatus	43-250
vissen	29- 43

Uit haar onderzoek bleek dat in plankton- en benthos-eters hogere metaalgehalten vooral van mangaan en zink, voorkwamen dan in de predatoren. Als concentratiefactoren noemt zij voor koper:

- plankton 250 - 2700 x
- benthos 500 - 3000 x en
- vissen 150 - 700 x.

Uthe & Bligh (1971) bepaalden kopergehalten in vissen uit een wel en niet geïndustrialiseerd gebied en vonden in de „vervuilde” vissen inderdaad meer koper. Volgens *Nicholls et al* (1959) worden in kopergehalten in plankton grote variaties waargenomen die verklaard kunnen worden door variaties in hoeveelheid en samenstelling van de darminhoud en door het al of niet voorkomen van schalen en pantsers waaraan het koper zich kan hechten. Analytisch wordt zeker bij kleine organismen, het totaal gehalte bepaald en niet alleen de concentraties in de weefsels die de fysiologisch actieve zouden zijn.

De aanwezigheid van slib in de darm van veel tweekleppigen was voor *Preston et al.* (1972) aanleiding om voor een meetnet rond Engeland en Ierland *Patella* te kiezen in plaats van de meer algemeen voorkomende mossel. Zij vermelden de volgende concentratiefactoren:

Fucus 4500 x, *Porphyra* 6300 x en *Patella* 7600 x.

Tenslotte is ook de toestand waarin het koper aanwezig is van belang voor de giftigheid.

Steeman Nielsen & Wium Andersen (1970) wijzen erop dat het „opwelling”, diep oceanische water minder plankton bevat dan op grond van de rijkdom aan nutriënten verwacht zou mogen worden. Verandering van water of toevoeging van cheleerende stoffen zou het water geschikter maken als groeimedium voor plankton.

Door verschillende auteurs is erop gewezen dat de toestand van het koper van groot belang is voor de giftigheid, maar zich aan chemische bepaling onttrekt, omdat het totaal koper bepaald wordt: giftig en minder giftig tezamen (*Arthur & Leonard*, 1971, *Godoy & Barth*, 1967, *Slowey et al*, 1967, *Steeman Nielsen & Wium Andersen*, 1970, *Stiff*, 1971).

Foster & Morris (1971) hebben bij een onderzoek in de Menai Straits een onderscheid gemaakt tussen verschillende vormen van opgelost koper; ionair, organisch gebonden en organo-koper. De concentraties van het ionaire koper waren sterk gecorreleerd met afvloeit van het land; 8-40% van het opgeloste koper kwam voor als organisch gebonden koper.

Het koper kan echter ook aan slibdeeltjes gebonden worden zoals door *Hellmann* (1970) in de Rijn en door *Nelson et al* (1969) in een irrigatiekanaal werd waargenomen.

3. De toxiciteit van koper

Bij het bepalen van de giftigheid van stoffen is de gebruikte methode van grote invloed op de resultaten van het onderzoek. Elders in dit speciale nummer worden deze methoden uitvoeriger besproken.

Tabel 2. Benaderde globale waarden voor de toxiciteit van koperverbindingen voor verschillende organismen en organismengroepen in $\mu\text{g l}^{-1}$

organismen	remmende conc.		dodelijke conc.		
	gem.	uiterste waarden	gem.	uiterste waarden	
<i>Chlorophyta</i> - groene algen	300	100-1400	600		
<i>Chlorella spec.</i>		250- 800			
<i>Enteromorpha spec.</i>				600	
<i>Spirogyra spec.</i>		13- 120			
<i>Chrysophyta</i> o.a. kiezelwieren	300	160- 800			
<i>Pyrrhophyta</i>	50				
<i>Phaeophyta</i> - bruine wieren		50- 100			
<i>Cyanophyta</i> - blauwe algen		10- 600		50- 200	
idem		1300-8000			
<i>Bacteriën</i>					
actief slib	25000				
<i>Escherichai coli</i>		20- 50			
<i>Pseudomonas fluorescens</i>					
<i>Polyzoa</i> - sponzen		200- 300			
<i>Mollusca</i> - weekdieren					
o.a. mosselen			14	500- 5000	
<i>Campeloma decisum</i> , <i>Physa integra</i>					
<i>Annelida</i> - rondwormen				1000- 2000	
<i>Ophryotrocha labronica</i>				3- 27	
<i>Insecta</i> - insecten					
vliegenlarven				320-32000	
<i>Crustaceae</i> -kreeftachtigen					
<i>Artemia salina</i>			270		
<i>Daphnia magna</i>		10- 30			20- 100
<i>Daphnia pulex</i>		40- 80		500- 5000	
Andere kleine kreeftachtigen				300- 700	
Zeepokken		140- 600			
Gammariden				400- 800	
<i>Carcinus maenas</i> - krab	25300		200.000		
<i>Echinodermata</i> - stekelhuidigen					
<i>Paracentrotus lividus</i> - zeeëgel	30				
<i>Pisces</i> - vissen					
<i>Carassius auratus</i> - goudvis			36		
<i>Cyprinus carpio</i> - karper	600		810		
<i>Gasterosteus aculeatus</i> - stekelbaars				20	
<i>Lebistes reticulatus</i> - guppy			36		
<i>Lepomis macrochirus</i>			660		
idem			10.200		
<i>Pimephales promelas</i>	>16		23		
idem	30			430- 1450	
<i>Salmo gairdnerii</i> - regenboogforel				250	
<i>Salmo salar</i> - zalm		17- 27		44- 80	
<i>Salmo trutta</i> - bruine forel			1000		
<i>Salvelinus fontinalis</i> - beekforel	39				
idem			225		

opmerkingen	literatuur
algistase, gaat gewoonlijk over in verhoogde mortaliteit	16, 48, 50, 51, 59, 68, 80, 84, 91, 105, 138
zwermsporen gevoeligste soort	50, 51, 59, 80, 84 68 105, 138
in zeewater zeer veel hogere concentraties nodig	48, 51, 91, 93, 112
volgens lit. 94 zou $3-5 \mu\text{g l}^{-1}$ dodelijk zijn voor <i>Gymnodinium breve</i>	48, 93, 94, 105 105, 120
betreft meerdere gevoelige soorten ongevoelige soorten	51, 91, 105 51, 91
invloed op biocoenose, 10% uitval kolonievorming grensconcentratie minimale toxische effecten	61 16, 17
remming groei en kolonievorming	100
kortdurende proeven (2h - 96h) langdurige proeven (6 weken)	31, 46, 54, 81, 105, 122, 143 6
o.a. <i>Tubifex</i> letale tijd 50% proefdieren (LT_{50}) $4^{1/2}$ - 70 h	14, 87, 105, 143 18
	14, 139
LC_{50} (168h), na 78h zou LC_{50} nog 27000 zijn vluchtreactie en LC_{50} tot 120h tolerantiegrens en LC_{50} 72h	18 4, 9, 14, 16, 25, 130 49, 107, 130
<i>Balanus spec. adults</i> , beweging cirri <i>G. pseudolimnaeus</i> $1,6 \mu\text{g l}^{-1}$ volgens lit. 6 dodelijk! remming hartslag en LD_{50} in 200h	23, 32, 35 31, 32, 83, 116 47, 77, 106 83
groeiremming	15
T_{1m} 96h, in zacht water	113
T_{1m} 96h, statisch	117, 130
LD_{100} , 192h	10
T_{1m} 96h in zacht water	113
T_{1m} 96h in zacht water	113
T_{1m} 96h in hard water	113
T_{1m} 96h in zacht water	113, 113
T_{1m} 96h in hard water, remming reproductie	103, 113
LC_{50} , 48h	57, 125, 130
vluchtreactie, gedragsverandering	10
LC_{100} , 80h in hard water veel hogere concentratie	98
minieme veranderingen in bloed	130
toxische grensconcentratie	

Toelichting bij de tabel

Wegens de zeer verschillende proefmethodes en proefomstandigheden en het gebruik van proefdieren van verschillende herkomst is het onmogelijk exacte gemiddelden voor de toxiciteit te geven. Om toch een globale indruk te verstrekken van de orde van grootte van de effecten is een persoonlijke, arbitraire, keuze gedaan. Deze is gebaseerd op die publicaties welke het meest aanvaardbaar leken. Van sommi-

ge groepen organismen zijn enkele eruit springende gegevens per soort nader vermeld. Met remmende concentraties is bedoeld ieder van het normale afwijkende effect, zoals ademhalingsremming, groeiemming, vluchtreacties etc. buiten directe mortaliteit.

Een gedetailleerde lijst met ca. 300 gespecificeerde literatuurgegevens is in gestencilde vorm op het Centraal Laboratorium te consulteren.

Als belangrijke factoren kunnen genoemd worden:

- het milieu — bijv. pH, temperatuur, zuurstofconcentratie, statisch of continu doorstromend —
- de duur van de toets — kortdurend acuut of langdurend sublethaal —
- de criteria voor de giftigheid — bijv. groei, reproductie, sterfte, beweging, reactie op prikkels — en
- de bepaling van de getoetste concentraties van de onderzochte stof.

Om de giftigheid van verschillende stoffen te kunnen vergelijken is het gewenst dat de toetsen volgens een standaardmethode worden uitgevoerd en dat de resultaten op dezelfde wijze worden weergegeven. Ten aanzien van beide vereisten ontbreekt echter nog wel wat aan het onderzoek.

Enkele formuleringen voor de mate van giftigheid, ontleend aan *Sprague* (1969), volgen hieronder:

- EC 50: median effective concentration: de concentratie die bij 50% van de organismen een bepaald effect teweegbrengt;
- LC 50: median lethal concentration: de concentratie, die 50% van de dieren doodt;
- Tlm: median tolerance limit: de concentratie die door 50% van de organismen verdragen wordt.

De LC 50 en de Tlm zijn in feite gelijke grootheden, alleen wordt de LC 50 vooral in Europa en de Tlm meer in Amerika gebruikt. Aangezien concentratie en expositieduur onverbrekkelijk met elkaar verbonden zijn bij het toxicologisch onderzoek moet de duur van de proef — gewoonlijk in uren uitgedrukt — vermeld worden: 24 LC 50, Tlm 96.

Er zijn verder door verschillende auteurs nog andere termen gebruikt, zoals incipient lethal level: de concentratie waarboven 50% van de organismen niet onbeperkt (d.w.z. niet langer dan de blanco) kan leven, ultimate median tolerance, lethal threshold concentration, etc.

Bovengenoemde termen gaan uit van een vaste proefduur met verschillende concentraties. Soms echter ontbreekt de tijd, de ruimte of het materiaal om veel concentraties te toetsen: dan wordt bij één vaste concentratie de tijdsduur gemeten die nodig is eer een bepaald effect optreedt. Dit wordt uitgedrukt in:

- ET 50: median effective time: de tijd nodig vóór 50% van de organismen een bepaald effect vertoont en
- LT 50: median lethal time: de tijd nodig vóór 50% van de organismen gedood is.

Uiteraard moeten bij deze termen de gebruikte concentraties vermeld worden. Wanneer wij nu tabel 2 bezien valt op dat het door de grote verscheidenheid van gebruikte methoden en organismen moeilijk is een grote lijn te onderkennen. Het meeste is bekend ten aanzien van de vergiftiging van algen, die op zichzelf ook wel de meest homogene groep vormen. Mede door hun eenvoudige bouw en eencelligheid lenen zij zich beter voor het verkrijgen van een beter inzicht. Samenvattend kan gesteld worden dat het mechanisme van de kopervergiftiging primair berust op een beschadiging van de celwand en secundair op een beïnvloeding van de fotosynthese en het metabolisme van de cel, doordat de normale celdeling niet plaats kan vinden. Het koper wordt verder sterk geadsorbeerd door de celwanden en gecomplexed door vrijkomende organische stoffen waardoor de toxiciteit tijdens het experiment tevens verandert.

Het zoöplankton en benthos zijn veel heterogener van samenstelling zodat het op zichzelf niet te verwachten is dat de vergiftiging volgens één mechanisme zal plaatsvinden.

Hubschmann (1967, a en b) heeft zeer uitvoerig onderzoek gedaan over de toxiciteit van koper voor verschillende levensstadia van de kreeft *Oreocetes rusticus*. Hij is van mening dat op grond van acute toetsen geen prognose gegeven kan worden over de toelaatbaarheid van bepaalde concentraties.

Over de toxiciteit voor vissen is vrij veel onderzoek verricht. Over het mechanisme van de vergiftiging is echter nog geen duidelijk beeld te geven. Samenvattend kan gesteld worden dat de werking op verschillende manieren tot uiting kan komen, nl. door afschrikking van de vis, waardoor hij uit een bepaald gebied kan verdwijnen of door een toxische werking na opname aan of in het lichaam. Deze opname kan zowel direct uit het water (bijv. via de kieuwen) of indirect via het voedsel tot stand komen. Bij de opname door de kieuwen zouden volgens sommige auteurs grote activiteit, gepaard gaande met een grote zuurstofconsumptie, of een verlaagde zuurstofconcentratie kunnen leiden tot een schijnbaar grotere gevoeligheid. De verklaring hiervoor zou zijn dat de kieuwen sterker doorstroomd worden, waardoor er meer gelegenheid is voor de opname van koper uit het water.

Voor een onderzoek van de giftigheid is in verband met de problematiek van de milieuvervuiling de bepaling van de sublethale effecten van zeer groot belang. Op een enkele uitzondering na ontbreekt een duidelijk omschreven toetsmethodiek, evenals een inzicht in een eventuele correlatie tussen kort- en langdurende proeven.

Literatuur

1. Abram, F. S. H. (1966-1967). The definition and measurement of fish toxicity thresholds. Proc. 3rd Int. Conf. Water Poll. Res., Munich 1, 75-95.
2. Alabaster, J. S. (1969). Survival of fish in 64 herbicides, insecticides etc. Inst. Pest. Control 1969, march-april, 29-36.
3. Anderson, B. G. (1944). The toxicity thresholds of various substances found in industrial wastes as determined by the use of *Daphnia magna*. Sewage Works J. 16, 1156-1165.
4. Anderson, B. G. (1948). The apparent thresholds of toxicity of *Daphnia magna* for chlorides of various metals when added to Lake Erie water. Trans. Am. Fish. Soc., 78, 96-113.
5. Anon. (1972). Worms adapt to metal pollution. Mar. Poll. Bull. 3, 3-4.
6. Arthur, J. W. & E. N. Leonard (1970). Effects of copper on *Gammarus pseudolimnaeus*, *Physa integra* and *Campeloma decisum* in soft water. J. Fish. Res. Bd. Can. 27, 1277-1283.
7. Atkins, W. R. (1953). The seasonal variation in the copper content of sea water. J. Mar. Biol. Ass. UK 31, 493-494.
8. Baker, J. T. P. (1969). Histological and electron microscopical observations on copper poisoning in the winter flounder (*Pseudopleuronectes americanus*). J. Fish. Res. Bd. Can. 26, 2785-2793.
9. Barnse, H. & F. A. Stanbury (1948). The toxic action of copper and mercury salts both separately and when mixed on the harpacticoid copepod *Nitocra spinipes* (Boeck) J. Exp. Biol. 25, 270-275.
10. Beekmans, I. (1968). Toxicité des substances présentes dans les eaux résiduaires de décapries et de traitement des métaux. Cédédeau 21, 334-339.
11. Bernard, F. J. & C. E. Lane (1961). Absorption and excretion of copper ions during settlement and metamorphosis of the barnacle *Balanus amphitrite niveus*. Biol. Bull. Mar. Biol. Lab. Woods Hole 121, 438-44.
12. Besch, K. W. & P. Roberts Pichette (1970). Effects of mining pollution on vascular plants in the North West Miramichi River System. Can. J. Bot. 48, 1647-1656.
13. Black, W. A. P. & R. L. Mitchell (1953). Trace elements in the common brown algae and in seawater. J. Mar. Biol. Ass. UK 30, 575-584.
14. Bosch, J. (1960). Versuchen über die Bekämpfung des Fischegels (*Piscicola geometra*) mit Hilfe von Kupferverbindungen. in: Liebmann, H. Handbuch der Frischwasser- und Abwasser-Biologie. Jena. Band 2, 820-822.
15. Bougis, P. (1965). Effet du cuivre sur la croissance de plutéus d'oursin (*Paracentrotus lividus*). Compt. Rend. Acad. Paris 260, 2929-2931.
16. Bringmann, G. & R. Kühn (1959). Vergleichende wasser-toxikologische Untersuchungen an Bakterien, Algen und Kleinrebsen. Gesundh. Ing. 80, 115-120.
17. Bringmann, G. & R. Kühn. (1960). Vergleichende toxikologische Befunde an Wasserbakterien. Gesundh. Ing. 81, 337-339.
18. Brown, B. & M. Ahsanullah (1971). Effect of heavy metals on mortality and growth. Mar. Poll. Bull. 2, 182-187.
19. Brown, V. M. (1968). The calculation of the acute toxicity of mixtures of poisons to rainbow trout. Water Res. 2, 723-733.
20. Brown, V. M. & R. A. Dalton, (1970). The acute lethal toxicity to rainbow trout of mixtures of copper, phenol, zinc and nickel. J. Fish. Biol. 2, 211-216.
21. Bryan, G. W. (1968). Concentrations of copper and zinc in the tissues of decapod crustaceans. J. Mar. Biol. Ass. UK 48, 303-321.
22. Bryan, G. W. (1969). The absorption of zinc and other metals by the brown seaweed *Laminaria digitata*. J. Mar. Biol. Ass. U.K. 49, 215-243.
23. Bryan, G. W. (1971). The effects of heavy metals (other than mercury) on marine and estuarine animals. Proc. Roy. Soc. Lond. B 177, 389-410.
24. Burdick, G. E. (1967). Use of bioassays in determining levels of toxic wastes harmful to aquatic organisms. Am. Fish. Soc., Spec. Publ. 4, 7-12.
25. Cabejszk, I. & M. Stasiak (1960). Studies on the effect of some metals on water biocenosis using the *Daphnia magna* index (in Polish). Roczn. pa'nst. Zakl. Hig. 11, 303-311. ref. Anon. (1971) Summary of information on the toxicity to freshwater organisms of arsenic and six heavy metals. Prepared for CL-TNO, Delft. W.P.R. report R 361.
26. Cairns, J. & K. L. Dickinson (1970). Reduction and restoration of the number of freshwater protozoan species following acute exposure to copper and zinc. Trans. Kans. Acad. Sci. 73, 1-10.
27. Cairns, J. & A. Scheier (1968). A comparison of the toxicity of some common industrial waste components tested individually and combined. Progr. Fish-Culturist 30, no. 1, 3-8.
28. Chandler, J. R. (1970). A biological approach to water quality management. Water Poll. Control. 1970, 414-422.
29. Chow, T. J. & T. G. Thompson (1952). The determination and distribution of copper in sea water. Part 1. The spectrophotometric determination of copper. J. Mar. Res. 11, 124-138.
30. Chow, T. J. & T. G. Thompson (1954). Seasonal variations in the concentration of copper in the surface water of San Juan Channel, Washington. J. Mar. Res. 13, 233-244.
31. Clarke, G. (1947). Poisoning and recovery in barnacles and mussels. Biol. Bull. 92, 72-91.
32. Corner, E. D. S. & B. W. Sparrow (1956). The modes of action of toxic agents I. Observation of the poisoning of certain crustaceans by copper and mercury. J. Mar. Biol. Ass. UK 35, 531-548.
33. Crandall, C. A. & C. J. Goodnight (1963). The effect of sublethal concentrations of several toxicants to the common guppy, *Lebistes reticulatus*. Trans. A. Microscop. Soc. 82, 59.
34. Dempster, R. P. & W. H. Shipman (1969). The use of the copper sulfate as a mendicant for aquarium fishes and as an algicide in marine mammal water systems. Occas. Papers Calif. Acad. Sci. 71, 1-6.
35. Deschiens, R., H. Floch & T. Floch (1964). Sur les propriétés molluscicides non piscicides du chlorure cuivreux en poudre. Bull. Soc. Path. Exot. 57, 377-381. ref. Anon. (1971) Summary of information on the toxicity to freshwater organisms of arsenic and six heavy metals. Prepared for CL-TNO, Delft. WPR-Report R 361.
36. Dewling, R. T., K. H. Walker & F. F. Brezinski (1970). Effects of pollution: loss of an \$ 18,— million/year shell fishery. FAO Tech. Conf. on Mar. Poll.: Effects on living resources and fish. MP/70/E78.
37. Djangmah, J. S. (1970). The effects of feeding and starvation on copper in the blood and hepato-pancreas and on the blood proteins of *Crangon vulgaris* (Fabricius). Comp. Biochem. Physiol. 32 709-731.
38. Doudoroff, P. (1956). Some experiments on the toxicity of complex cyanides to fish. Sewage Indus. Wastes. 28, 1020-1040.
39. Doudoroff, P. & M. Katz (1953). Critical review of literature on toxicity of industrial wastes and their components to fish II. The metals as salts. Sewage Indus. Wastes. 25, 802-830.
40. Doudoroff, P., G. Leduc & C. R. Schneider (1966). Acute toxicity to fish of solutions containing complex metal cyanides in relation to concentrations of molecular hydrocyanic acid. Trans. Am. Fish. Soc. 95, no. 1, 6-22.
41. Dowdy, R. P. (1969). Copper metabolism. Am. J. Clin. Nutr. 22, 887-892.
42. Duce, R. A., J. G. Quinn, C. E. Olney, S. R. Piotrowicz, B. J. Ray & T. L. Wade (1972). Enrichment of heavy metals and organic compounds in the surface microlayer of Narragansett Bay, Rhode Island. Science 176, 161-163.
43. Ebeling, G. (1928). Über die Giftigkeit einiger Schwermetallsalze an Hand eines Falles aus der Praxis. Zschr. f. Fischerei 26, 49.
44. Edwards, R. W. & V. M. Brown (1967). Pollution and fisheries: a progress report. Water Poll. Control 66, 63-78.
45. Eichorn, K. & E. B. Grunau (1968). Die biologische Bedeutung des Kupfers. Metall (Berlin) 22, 1143-1147.
46. El-Guindy, H. I. (1969). Copper sulphate as a molluscicide against *Bulimus truncatus* eggs in Iraq. J. Egypt. Med. Ass. 52, 245-257. ref. Biol. Abstr. 51 (1970) no. 137917.
47. Elis, M. M. (1937). Bull. Bur. Fish. (Wash.) 48, 365-347. Ref. Anon. (1971) Summary of information on the toxicity to freshwater organisms of arsenic and six heavy metals. Prepared for CL-TNO, Delft. WPR-Report R 361.
48. Erickson, S. J., N. Lackie & T. E. Maloney (1970). A screening technique for estimating copper toxicity to estuarine phytoplankton. J. Water Poll. Contr. Fed. 42, R 273-R 278.
49. Fisher, A. (1956). The effect of copper sulphate on some microorganisms in fish ponds. Bannidget 8, 21-27, 39-43. Ref. Anon. (1971) Summary of information on the toxicity to freshwater organisms of arsenic and six heavy metals. Prepared for CL-TNO, Delft. WPR-report R 361.
50. Fitzgerald, G. P. (1964). Factors in the testing and application of algicides. Appl. Microbiol. 12, 247-253.
51. Fitzgerald, G. P. & S. L. Faust (1963). Factors affecting the algicidal and algistatic properties of copper. Appl. Microbiol. 11, 345-351.
52. Foster, P. & A. W. Morris (1971). The seasonal variation of dissolved ionic and organically associated copper in the Menai Straits. Deep Sea Res. Oceanogr. Abstr. 18, 231-236.
53. Fowler, J. R. (1931). Mass resistance to toxic electrolytes. Physiol. Zool. 4, 214-245.
54. Galtsoff, P. S. (1932). Life in the ocean from a biochemical point of view. J. Wash. Acad. Sci. 22, 246-257.
55. Godoy, O. T. & R. Barth (1967). Concentração de cobre na água e sua influência sobre o plâncton. Ministerio da marinha. Instituto de pesquisas da Marinha, Rio de Janeiro. Publ. no. 1, 1-16.
56. Goldfischer, S., B. Schiller & I. Sternlieb (1970). Copper in hepatocyte lysosomes of the toad *Bufo Marinus* L. Nature 228, 172-173.
57. Grande, M. (1966). Effect of copper and zinc on Salmonid fishes. Adv. Water Poll. Res. (Munich) 1, 97-111.
58. Gross, R. E., P. Pugno & W. M. Dugger (1970). Observations on the mechanism of copper damage to *Chlorella*. Plant Physiol. 46, 183-185.

59. Hannan, P. J. & C. Patouillet (1967). Toxicity of metals to *Chlorella*: a surface phenomenon. *Developm. Indus. Microbiol.* 8, 313-320.
60. Harris, J. E. (1946). Report on antifouling research, 1942-44. *J. Iron & Steel Inst.* 154, 297P-334P.
61. Hartmann, L. (1967). Zwei Methoden zur Bestimmung und Beschreibung von Toxizitätserscheinungen in der Wasser- und Abwasseranalyse. *Gas-Wasserfach, Wasser-Abwasser* 108, 249-252.
62. Hassall, K. (1967). Inhibition of respiration of *Chlorella vulgaris* by simultaneous application of cupric and fluoride ions. *Nature* 215, 521.
63. Hassall, K. (1969). An asymmetric respiratory response occurring when fluoride and copper ions are applied jointly to *Chlorella vulgaris*. *Physiol. Plant.* 22, 304-311.
64. Hellmann, H. (1970). Die Absorption von Schwermetallen an der Schwebstoffen des Rheins. Eine Untersuchung zur Entgiftung des Rheinwassers (ein Nachtrag) *Dtsch. Gewässerkundl. Mitt.* 14, no. 2, 42-47.
65. Henderson, C. & Q. H. Pickering (1963). Use of fish in the detection of contaminants in water supplies. *J. Am. Waterworks Ass.* 55, 715-720.
66. Herbert, D. W. M. & D. S. Shurben (1963). A preliminary study of the effect of physical activity on the resistance of rainbow trout (*Salmo gairdnerii*, Richardson) to two poisons. *Ann. Appl. Biol.* 53, 321-326.
67. Herbert, D. W. M. & J. M. Vandijke (1963). The toxicity to fish of mixtures of poisons II. Copper-ammonia and zinc-phenol mixtures. *Ann. Appl. Biol.* 53, 415-421.
68. Hoffmann, C. (1950). Beiträge zur Kenntnis der Wirkung von Giften auf marine Organismen. *Kieler Meeresforsch.* 7, 38-53.
69. Hubschman, J. H. (1967, a). Effects of copper on the crayfish *Oreorectes rusticus* (Girard) I Acute toxicity. *Crustaceana* 12, 33-42.
70. Hubschman, J. H. (1967, b). Effects of copper on the crayfish *Oreorectes rusticus* (Girard). II Mode of toxic action. *Crustaceana* 12, 141-151.
71. Hunter, W. R. (1949). The poisoning of *Marinogrammarus marinus* by cupric sulphate and mercuric chloride. *J. Exp. Biol.* 26, 118-124.
72. Ikuta, K. (1968, a). Studies on accumulation of heavy metals in aquatic organisms. II On accumulation of copper and zinc in oysters. *Bull. Jap. Soc. Fish.* 34, 112-116.
73. Ikuta, K. (1968, b). Studies on accumulation of heavy metals in aquatic organisms. III On accumulation of copper and zinc in the parts of oysters. *Bull. Jap. Soc. Fish.* 34, 117-123.
74. Ikuta, K. (1968, c). Studies on accumulation of heavy metals in aquatic organisms. IV On disappearance of abnormally accumulated copper and zinc in oysters. *Bull. Jap. Soc. Fish.* 34, 482-487.
75. Ishio, S. (1962-65). Behaviour of fishes exposed to toxic substances. *Proc. 2nd Int. Conf. Water Poll. Res. (Tokyo)* 1, 19-40.
76. Jones, J. R. E. (1938). The relative toxicity of salts of lead, zinc and copper to the stickleback (*Gasterosteus aculeatus*, L) and the effect of calcium on the toxicity of lead and zinc salts. *J. Exp. Biol.* 15, 394-407.
77. Jones, J. R. E. (1941-42). The effect of ionic copper on the oxygen consumption of *Gammarus pulex* and *Polycelis nigra*. *J. Exp. Biol.* 18, 153-161.
78. Kahlenberg, L. & H. F. Mehl (1901). Toxic action of electrolytes upon fishes. *J. Phys. Chem.* 5, 113.
79. Kamp Nielsen, I. (1969). Influence of copper on the photosynthesis and growth of *Chlorella pyrenoidosa*. *Dan. Tidskr. Farm.* 43, 249-254.
80. Kanazawa, T. & S. Kanazawa (1969). Specific inhibitory effect of copper on cellular division in *Chlorella*. *Plant Cell Physiol.* 10, 495-500.
81. Kapkov, V. I. (1971). Toxicity of copper complexes to freshwater mollusks. *Vestn. Mosk. Univ. Ser. 1. Pochvoved* 26, no. 2, 24-37.
82. Karbe, L. (1972). Marine hydrozoen als Testorganismen zur Prüfung der Toxizität von Abwasserstoffen, die Wirkung von Schwermetallen auf Kolonien von *Eirene viridula*. *Mar. Biol.* 12, 306-328.
83. Kerkut, G. A. & K. A. Munday (1962). The effect of copper on the tissue respiration of the crab *Callinectes maenas*. *Can. Biol. Mar.* 3, 27-35.
84. Khobot'ev, V. G., V. I. Kapkov & G. G. Rukhadze (1969). Toxicity of copper complexes towards *Scenedesmus quadricauda* Breb. *Mikrobiol. (USSR)* 38, 857-859.
85. Lageveen-van Kuyk, Mevr. Drs. H. J. (1972). In print. TNO-Nieuws.
86. Lawrence, C. H., R. L. Coleman & W. L. Sowell (1968). Endrin-induced trace metal alterations following acute exposure. *Bull. Environm. Contam. Toxicol.* 3, 229-239.
87. Learner, M. A. & R. W. Edwards (1963). The toxicity of some substances to Nais (Oligochaeta). *Proc. Soc. Water Treatm. Exam.* 12, 161-168. In: Anon. (1971) Summary of information on the toxicity to freshwater organisms of arsenic and six heavy metals. Prepared for CL-TNO, Delft. WPR-report R361.
88. Leisegang, E. C. & M. J. Orren (1966). Trace element concentration in the sea off South Africa. *Nature* 211, 1166-1167.
89. Lloyd, R. (1961). The toxicity of mixtures of zinc and copper sulphates to rainbow trout (*Salmo gairdnerii* Richardson). *Ann. Appl. Biol.* 49, 535-538.
90. Lloyd, R. & D. W. M. Herbert (1962). The effect of the environment on the toxicity of poisons to fish. *J. Inst. Pub. Hlth. Engrs.* 61, 132-145.
91. Maloney, G. E. & C. M. Palmer (1956). Toxicity of six chemical compounds to thirty cultures of algae. *Water & Sewage Works* 1956, november.
92. Martin, J. H. (1970). The possible transport of trace metals via moulted copepod exoskeletons. *Limnol. & Oceanogr.* 15, 756-761.
93. Mandelli, E. F. (1969). Inhibitory effects of copper on marine phytoplankton. *Contrib. Mar. Sci.* 14, 47-57.
94. Marvin, K. T., C. M. Lansford & R. S. Wheeler (1961). Effects of copper ore on the ecology of a lagoon. *Fish. Bull. Wildlife Serv. U.S.* 61, 153-160 ref. Mandelli, E. F. (1969). *Contrib. Mar. Sci.* 14, 47-57.
95. McBrien, D. C. H. & K. A. Hassall (1965). Loss of cell potassium by *Chlorella vulgaris* after contact with toxic amounts of copper. *Physiol. Plant.* 18, 1059-1065.
96. McBrien, D. C. H. & K. A. Hassall (1967). The effect of toxic doses of copper upon respiration, photosynthesis and growth of *Chlorella vulgaris*. *Physiol. Plant.* 20, 113-117.
97. McKee, J. E., & H. W. Wolf (1963). Water quality criteria. The Resources Agency of California, State Water Quality Control Board, Publ. 3-A: 548 pp.
98. McKim, J. M., G. M. Christensen & E. P. Hunt (1970). Changes in the blood of the brook trout (*Salvelinus fontinalis*) after short-term and long-term exposure to copper. *J. Fish. Res. Bd. Can.* 27, 1883-1889.
99. McKim, J. M. & D. A. Benoit (1971). Effects of long-term exposure to copper on survival, growth and reproduction of brook trout (*Salvelinus fontinalis*). *J. Fish. Res. Bd. Can.* 28, 655-662.
100. Miller, M. A. (1946). Toxic effects of copper on attachment and growth of *Bugula neritina*. *Biol. Bull. Mar. Biol. Lab. Woods Hole* 90, 122-140.
101. Moore, N. W. (1967). A synopsis of the pesticide problem. *Adv. Ecol. Res.* 4, 75-129.
102. Mount, D. I. (1967). Considerations for acceptable concentrations of pesticides for fish production. *Am. Fish. Soc., Spec. Publ.* 4, 3-6.
103. Mount, D. I. (1968). Chronic toxicity of copper to fathead minnow (*Pimephales promelas*, Rafinesque). *Water Res.* 2, 215-223.
104. Mount, D. I. & C. E. Stephan (1969). Chronic toxicity of copper to the fathead minnow (*Pimephales promelas*) in soft water. *J. Fish. Res. Bd. Can.* 26, 2449-2457.
105. Nat. Techn. Adv. Comm. (1968). Water quality criteria. Washington, Water Pollution Control Federation.
106. Nebeker, A. V. & A. R. Gaufin (1963-64). Bioassays to determine pesticide toxicity to the amphipod crustacean *Gammarus lacustris*. *Proc. Utah Acad. Sci.* 41, 64-67. In: Anon. (1971) Summary of information on the toxicity to freshwater organisms of arsenic and six heavy metals. Prepared for CL-TNO, Delft. WPR-Report R 361.
107. Nekipelov, M. I. (1967). The toxicity of nitrates to aquatic organisms (in Russian). *Zool. Zh.* 46, 932-936. In: Anon (1971) Summary of information on the toxicity to freshwater organisms of arsenic and six heavy metals. Prepared for C.L.-TNO, Delft. WPR-Report R 361.
108. Nelson, J. L., V. F. Bruns, C. C. Coutant & B. L. Carlile (1969). Pesticides in water: behaviour and reactions of copper sulphate in an irrigation canal. *Pestic. Monit. J.* 3, 186-189.
109. Nicholls, G. D., H. Curl & V. F. Bowen (1959). Spectrographic analysis of marine plankton. *Limnol. & Oceanogr.* 14, 472-478.
110. Noddack, I., & W. Noddack (1940). Die Häufigkeit der Schwermetalle in Meerestieren. *Ark. Zool.* 32A.
111. O'Dell, B. L. & B. J. Campbell (1971). Trace elements: metabolism and metabolic function. In: Florkin, M. & E. H. Stotz (ed). *Comprehensive biochemistry*. Amsterdam, Elsevier. Publ. Comp.
112. Patrick, R., J. Cairns & A. Scheier (1968). The relative sensitivity of diatoms, snails and fish to twenty common constituents of industrial waste. *Progr. Fish. Culturist.* 30, 137-140.
113. Pickering, Q. H. & C. Henderson (1964). The acute toxicity of some heavy metals to different species of warm water fishes. *Proc. 9th Indus. Waste Conf. Eng. Ext. Ser. no. 117, 2, 578.*
114. Portman, J. E. (1968). Progress report on a programme of insecticide analysis and toxicity testing in relation to the marine environment. *Helgol. Wiss. Meeresunters.* 17, 247-256.
115. Preston, A., D. F. Jefferies, J. W. R. Dulton, B. R. Harvey & A. K. Steele (1972). British Isles coastal waters: the concentrations of selected heavy metals in seawater, suspended matter and biological indicators: a pilot survey. *Environ. Poll.* 3, 69-82.
116. Pyefinch, K. A. & J. C. Mott (1948). The sensitivity of barnacles and their larvae to copper and mercury. *J. Exp. Biol.* 25, 276-298.

117. Rehwaldt, R., G. Bitá & B. Nerrie (1971). Acute toxicity of copper, nickel and zinc ions to some Hudson River fish species. *Bull. Environm. Contam. Toxicol.* 6, 445-448.
118. Richet, M. Ch. (1881). De la toxicité comparée des différents métaux. *Compt. Rend. Acad. Sci. (Paris)* 93 649-651.
119. Rozhanskaya, L. I. (1967). Manganese, copper and zinc in plankton, benthos and fishes in the Sea of Azov. *Okeanologiya* 7, 1032-1036.
120. Russell, G., & O. P. Morris (1970). Copper tolerance in the marine fouling alga *Ectocarpus siliculosus*. *Nature* 228, 288-289.
121. Saltman, P., T. Alex & B. Mc Cormack (1959). The accumulation of copper by rat liver slices. *Arch. Biochem. Biophys.* 83, 538-547.
122. Shapiro, A. Z. (1968). Oxygen consumption of mussels (*Mytilus galloprovincialis*) after treatment with some chemical substances. *Biol. Issled. Chern. Morya Ego Prom.* 1968, 148-152. ref. *Chem. Abstr.* 74, (1971) 20814 Z.
123. Shaw, T. L. & V. M. Brown (1971). Heavy metals and the fertilization of rainbow trout eggs. *Nature* 230, 251.
124. Slowey, J. F., L. M. Jeffrey & D. W. Hood (1967). Evidence for organic complexed copper in sea water. *Nature* 214, 377-378.
125. Sprague, J. B. (1964a). Avoidance of copper-zinc solutions by young salmon in the laboratory. *J. Water Poll. Control Fed.* 36, 990-1004.
126. Sprague, J. B. (1964b). Lethal concentration of copper and zinc for young Atlantic salmon. *J. Fish. Res. Bd. Can.* 21, 17-26.
127. Sprague, J. B. (1969). Measurement of pollutant toxicity to fish. I Bioassay methods for acute toxicity. *Water Res.* 3, 793-821.
128. Sprague, J. B. (1970). Measurement of pollutant toxicity to fish II Utilizing and applying bioassay results. *Water Res.* 4, 3-32.
129. Sprague, J. B. (1971). Measurement of pollutant toxicity to fish III. Sublethal effects and „safe“ concentrations. *Water Res.* 5, 245-266.
130. Sprague, J. B., P. F. Elson & R. L. Saunders (1965). Sublethal copper — zinc pollution in a salmon river — a field and laboratory study. *Adv. Water Poll. Res. Proc. 2nd Int. Conf. Tokyo 1964*, 1, 61-82.
131. Steeman Nielsen, E. (1952). The use of radioactive carbon (C¹⁴) for measuring organic production in the sea. *J. Cons. Perm. Internat. Expl. Mer* 18, 117-140.
132. Steeman Nielsen, E. & L. Kamp Nielsen (1970). Influence of deleterious concentrations of copper on the growth of *Chlorella pyrenoidosa*. *Physiol. Plant.* 23, 828-840.
133. Steeman Nielsen, E., L. Kamp Nielsen & S. Wium Andersen (1969). The effect of deleterious concentrations of copper on the photosynthesis of *Chlorella pyrenoidosa*. *Physiol. Plant.* 22, 1121-1133.
134. Steeman Nielsen, E. & S. Wium Andersen (1970). Copper ions as poison in the sea and in freshwater. *Mar. biol.* 6, 93-97.
135. Stiff, M. J. (1971). Copper-bicarbonate equilibria in solutions of bicarbonate ion at concentrations similar to those found in natural water. *Water. Res.* 5 171-176.
136. Tsay, Sue-Fei, Jhy-Mei Lee & J. Q. Lynd (1970). The interactions of Cu⁺⁺ and CN⁻ with paraquat phytotoxicity to a chlorella. *Weed. Sci.* 18, 596-598. ref. *Biol. Abstr.* 52, (1971) 10500.
137. Urhe, J. F. & E. G. Bligh (1971). Preliminary survey of heavy metal contamination of Canadian freshwater fish. *J. Fish. Res. Bd. Can.* 28, 786-788.
138. Walshe, J. M. (1968). Copper: one man's meat is another man's poison. *Proc. Nutr. Soc.* 27, 107-112.
139. Warnick, S. L. & H. L. Bell (1969). The acute toxicity of some heavy metals to different species of aquatic insects. *J. Water Poll. Contr. Fed.* 41, 280-284.
140. Water Pollution Research Laboratory Steering Committee (1971). Effects of pollution on fish. *Water Pollution Research 1970*, 58-66. London H.M.S.O.
141. Whitton, B. A. (1970). Toxicity of zinc, copper and lead to chlorophyta from flowing waters. *Arch. Mikrobiol.* 72, 353-360.
142. Whitworth, W. R. & T. H. Lane (1969). Effect of toxicants on community metabolism in pools. *Limnol. & Oceanogr.* 14, 53-59.
143. Wisely, B. & R. A. P. Blick (1967). Mortality of marine invertebrate larvae in mercury, copper and zinc solutions. *Austr. J. Mar. Freshwater Res.* 18, 63-72.
144. Wundsch, H. H. (1935). Vergiftete Fische. *Kl. Mitt. d. Landesanstalt f. Wasser-, Boden- u. Lufthygiene* 11, 113-137.

De invloed van fosfaat op de toxiciteit van koper voor een alg (*Chlamydomonas* sp.)

Dr. C. L. C. MEIJER
Centraal Laboratorium TNO

The influence of phosphate on the toxicity of copper towards an alga (*Chlamydomonas* sp.)

Samenvatting

De toxiciteit van koperchloride, ten aanzien van de celvermeerdering en de zuurstofproductie van de mariene alg Chlamydomonas sp., is voor verschillende koperconcentraties bepaald.

De invloed die het fosfaat in het toetsmedium heeft op de toxiciteit van koper, is onderzocht. Een vermindering van de hoeveelheid fosfaat geeft een verhoging van de toxiciteit van koper te zien. Deze resultaten worden aan de hand van enkele literatuurgegevens besproken.

Inleiding

Algen worden bij onderzoek naar de toxiciteit van koper in zeewater betrokken omdat zij als primaire producenten in zee de basis vormen voor alle volgende schakels in een voedselketen. Een vermindering van deze eerste schakel, onder invloed van een toxische stof, betekent een beperking voor het gehele systeem. Tevens zijn de eigenschappen van algen zo verschillend van de eropvolgende organismen in een voedselketen, dat heel andere constitutionele factoren de resultaten van toxiciteitstoetsen zullen bepalen. Enkele eigenschappen van algen, in dit verband van belang, zijn:

- algen zijn kleine planten
- de celwand is van cellulose
- ze hebben een korte generatietijd en
- een primaire stofwisseling.

Doordat de algen klein zijn (*Chlamydomonas* is 5-8 μm), hebben ze ten opzichte van hun volume een relatief groot oppervlak. Dit oppervlak kan, als absorberend oppervlak voor toxische stoffen, een groot deel van deze stoffen binden. Wanneer een toxische stof door de algen wordt opgenomen, is door de kleine afmetingen slechts een korte transportweg in de cel nodig voordat accumulatie kan plaatsvinden.

Een duidelijk verschil, in vergelijking met dierlijke toetsorganismen, vormt de samenstelling van de celwand die bij dit organisme grotendeels uit cellulose bestaat. Dit zal in hoge mate de eigenschap

Summary

The toxicity of copperchloride, with regard to the increase in cell numbers and the oxygen production of the marine alga Chlamydomonas sp., was determined for several concentrations of copper.

The effect of phosphate in the test medium was investigated in relation to the toxicity of copper. A decrease in the phosphate concentration causes an increase in the toxicity of copper. These results were discussed on the basis of data from literature.

pen van adsorptie en opname van een toxische stof bepalen.

De generatietijd van *Chlamydomonas* bedraagt onder de gekozen toetsomstandigheden ongeveer acht uur. Het is hierdoor mogelijk om, wanneer een proef enkele dagen duurt, verschillende generaties algen in één toets te betrekken. De invloed van toxische stoffen op de reproductiecapaciteit van de algen kan dan worden nagegaan.

De voor planten kenmerkende primaire stofwisseling, geeft algen de mogelijkheid om uit anorganische bestanddelen, onder invloed van licht, organisch materiaal te vormen. Dit manifesteert zich in celgroei en celdeling, waarbij zuurstof aan het milieu wordt afgegeven.

Meestal wordt in toxiciteitstoetsen de reactie van ieder individu afzonderlijk, op de toxische stof bepaald: zo wordt bijvoorbeeld in vissenproeven de mortaliteit nagegaan door het aantal dode dieren op een bepaald tijdstip vast te stellen. Voor algen is dit bijzonder moeilijk, omdat met grote aantallen algen wordt gewerkt, waarbij komt dat dode en levende algen uiterlijk slecht van elkaar zijn te onderscheiden. Ook het bepalen van metabolische processen als de zuurstofproductie in het licht, is door de geringe hoeveelheid niet mogelijk per individu.

Daarom wordt groei als *celvermeerdering* van een gehele algencultuur bepaald en wordt de optredende *zuurstofproductie* eveneens van een groot aantal cellen gemeten, waardoor het *gemiddelde* effect, dat een toxische stof op deze processen kan

hebben, over een groot aantal individuen ($5 \cdot 10^3$ - $5 \cdot 10^5$ cellen ml^{-1}) wordt verkregen.

Algen hebben voor een goede groei stikstof en fosfor nodig. Deze elementen worden in de meeste kweekmedia als nitraat en fosfaat toegediend.

In de natuur is het ontstaan van goede voedingsomstandigheden bekend als eutrofiëring, waarbij het zelfs tot een explosief toenemen van het aantal algen, zogenaamde algenbloei, kan komen (o.a. Schindler 1971).

Ryther en Dunstan (1971) vonden in kustwater reeds een tweemaal zo grote hoeveelheid fosfaat, als door de normaal voorkomende algenpopulatie kan worden verbruikt.

Om de groei van algen te beperken of tegen te gaan worden vaak koperzouten gebruikt. Steeman Nielsen et al (1970) menen dat koper in ionvorm reeds bij concentraties van $1 \mu\text{g l}^{-1}$ giftig is voor de groei van eencellige algen. Zij wijzen er echter op dat organische stoffen gemakkelijk complexen vormen met koper en dat b.v. $\text{Fe}(\text{OH})_3$ gemakkelijk koper adsorbeert, waarna het precipiteert. Het gecomplexeerde koper is volgens deze auteurs niet giftig voor de algen.

In hoeverre een verhoogde fosfaatconcentratie de toxiciteit van koper voor *Chlamydomonas*, in zee-water, kan beïnvloeden vormt de vraag voor dit onderzoek.

Methode van onderzoek

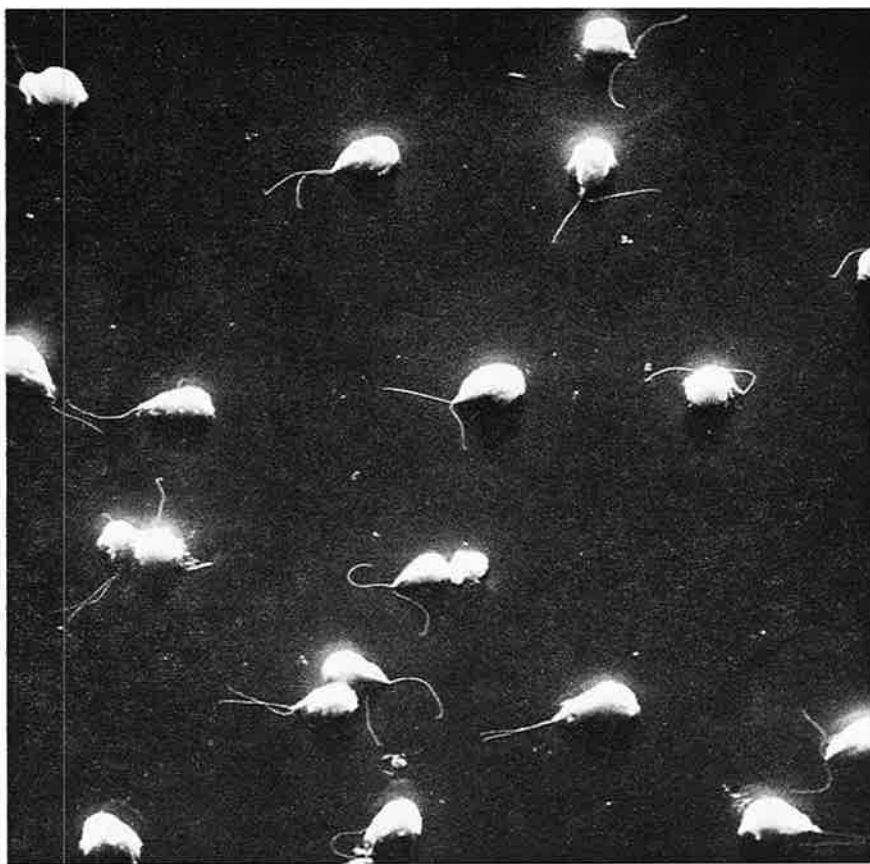
De alg *Chlamydomonas* sp. is een eencellige mariene alg met flagellen (orde: Chlorophyceae). Het voordeel van een alg met flagellen ten opzichte van niet beweeglijke eencellige algen is, dat ze zich met hun zweepharen (flagellen) actief door het water bewegen en daardoor homogener in de vloeistof zijn verdeeld dan niet beweeglijke algen. *Chlamydomonas* wordt onder continue belichting (Philips TL 33; ~ 7000 Lux) bij 20°C gekweekt. Het voedingsmedium bestaat uit kunstmatig zee-water met voedingszouten volgens Schreiber, echter zonder de gebruikelijke toevoeging van grondextract, daar dit een sterk complexerende werking heeft voor zware metalen (Geering 1969). Aan het begin van ieder experiment worden de algen van een acht dagen oude cultuur door centrifugeren van het voedingsmedium gescheiden.

Zij worden dan in het toetsmedium opnieuw gesuspenderd, geteld en verdund tot de gewenste celconcentratie is bereikt.

Als toxische stof is koperchloride gekozen. Dit metaalzout wordt eveneens gebruikt bij toxiciteitstesten met dierlijke organismen, zoals dit is beschreven in de artikelen van Adema, Vink en de Wolf in dit nummer.

Vergelijking van de gevoeligheid van de verschillende toetsorganismen is hierdoor mogelijk.

Rasterelektronenmicroscopopname van *Chlamydomonas* cellen. (Lengte van een cel $\pm 8 \mu\text{m}$.)



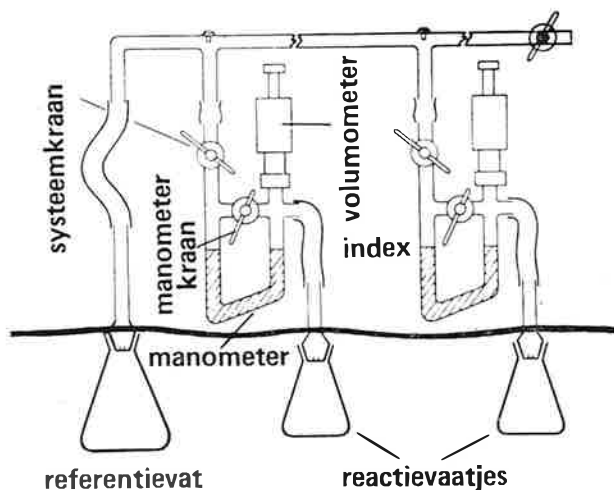


Fig. 1. Schematische voorstelling van een Gilson respirometer.

Verschillende koperconcentraties worden onder standaardcondities op hun toxiciteit getoetst. Het toetsmedium voor *Chlamydomonas* bevat hierbij:

- 0,1 g NaNO_3
- 0,2 g NaHCO_3 en
- 0,02 g $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$

per liter kunstmatig zeewater.

De toetsen zijn uitgevoerd met en zonder fosfaat-toevoeging aan het medium. Het als oplosmiddel gebruikte kunstmatige zeewater bevat zelf reeds ongeveer 0,002 g fosfaat per liter. Voor het tellen van de algencellen is gebruik gemaakt van een Coulter Counter (model F).

Celvermeerdering

De celvermeerdering is bepaald gedurende vier dagen in kweekflessen van 300 ml die aanvankelijk een algenc concentratie bevatten van $5 \cdot 10^3$ *Chlamydomonas* cellen per ml.

De temperatuur wordt hierbij op 20°C gehouden.

De invloed van fosfaat op de toxiciteit van koper voor de celvermeerdering van *Chlamydomonas*.

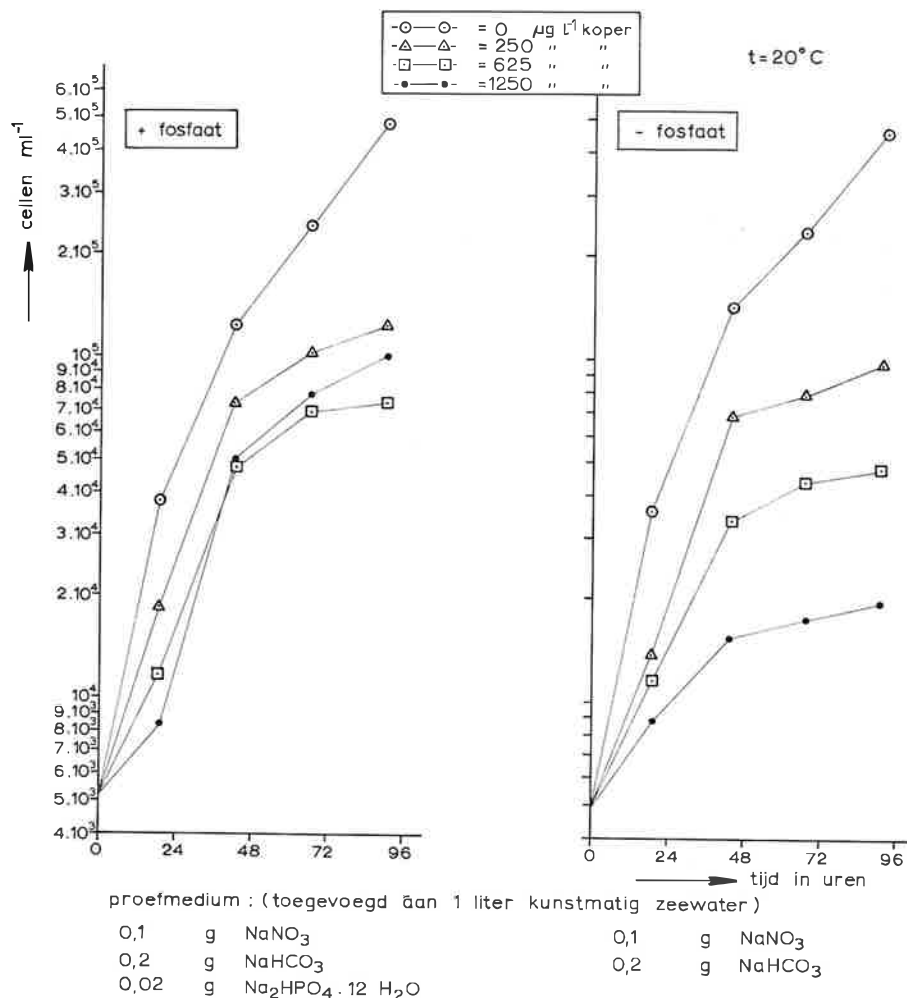


Fig. 2. De invloed van fosfaat op de toxiciteit van koper voor de celvermeerdering van *Chlamydomonas*.
The influence of phosphate on the toxicity of copper towards multiplication of cells of *Chlamydomonas*.

Bepalingen, langer dan vier dagen, leveren weinig relevante informatie op, omdat het effect van de toxische stof dan wordt overschaduwd door andere remmende factoren als autintoxicatie, d.w.z. vergiftiging van de algen door eigen afvalstoffen, of voedselgebrek. De groei wordt gemeten door uit de kweekflessen op de gewenste tijdstippen een monster te tellen.

Zuurstofproductie

Met een Gilson Respirometer (fig. 1) wordt de zuurstofproductie gemeten. In reactievaatjes van 50 ml., die tijdens de proef worden geschud om de algensuspensie zo homogeen mogelijk te houden, zit bij de aanvang van de proef 25 ml. *Chlamydomonas* cultuur van 10^5 cellen ml^{-1} .

De vaatjes worden 16 uur voor de aanvang van de bepaling aan het apparaat bevestigd. De temperatuur wordt op 20°C ($\pm 0,02^\circ\text{C}$) konstant gehouden, bij een continue belichting (Philips superlux; ~ 9000 Lux). Bij het begin van de proef wordt op

deze wijze een konstante zuurstofproductie gemeten.

Resultaten

Zowel voor groei- als zuurstofproductietoetsen is de toxiciteit van een aantal koperconcentraties bepaald in het toetsmedium met (+ fosfaat) en zonder (- fosfaat) fosfaattoevoeging ($0,02$ g $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$ per liter).

Celvermeerdering

In figuur 2 is de invloed van 0, 250, 625 en 1250 μg toegevoegd koper per liter weergegeven.

Zuurstofproductie

In figuur 3 is de invloed van 0, 50, 250, 500 en 2000 μg toegevoegd koper per liter weergegeven. De rechte lijnen door de bijbehorende punten zijn berekend met de methode der kleinste kwadraten.

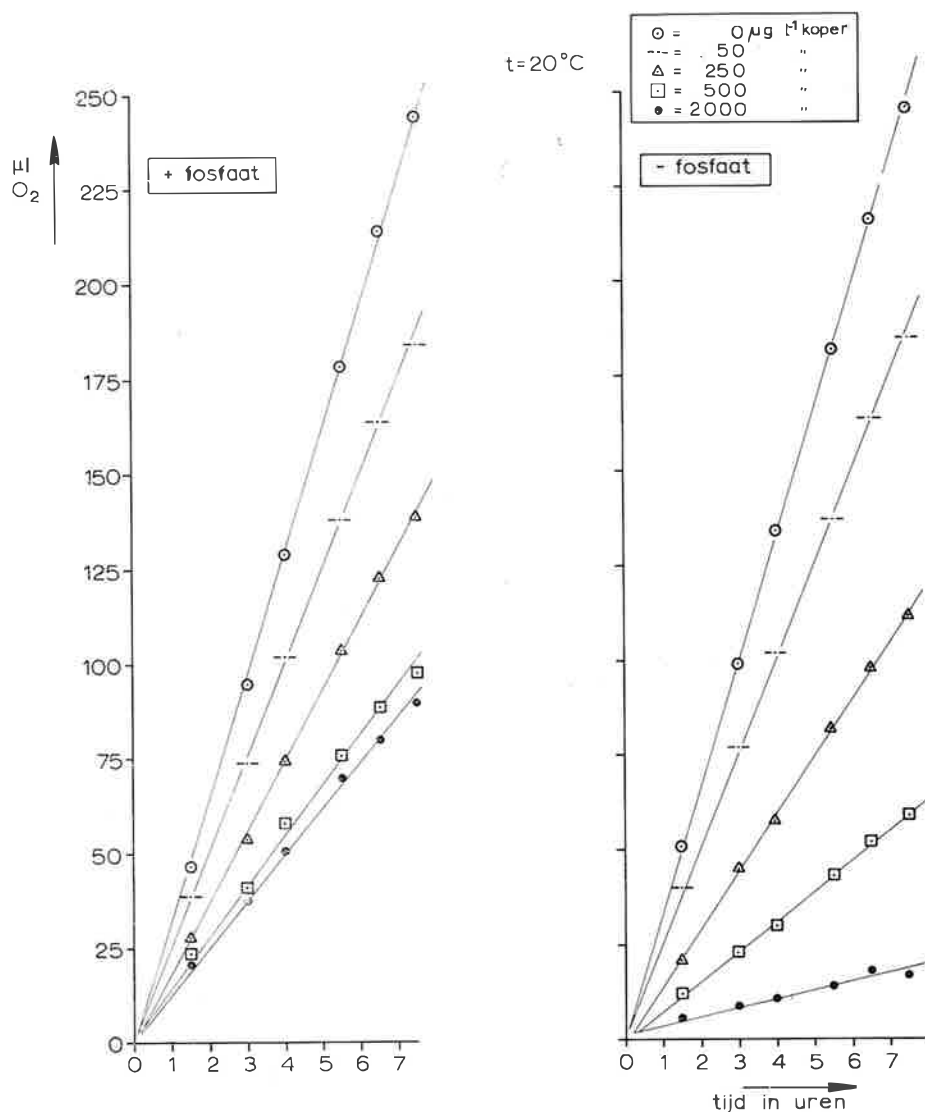


Fig. 3. De invloed van fosfaat op de toxiciteit van koper voor de zuurstofproductie van *Chlamydomonas*.
The influence of phosphate on the toxicity of copper towards production of oxygen of *Chlamydomonas*.

Discussie

De remming van de celvermeerdering en de zuurstofproductie onder invloed van koper is uit de figuren 2 en 3 duidelijk, terwijl de invloed van fosfaat op deze effecten tevens onmiskenbaar is. De veranderde fosfaatconcentratie heeft op de celvermeerdering en de zuurstofproductie in afwezigheid van koper geen invloed. Uit de figuren is dit te zien, doordat zowel met als zonder toegevoegd fosfaat de lijnen voor 0 μg koper l^{-1} (= blanko) dezelfde vorm en waarde hebben.

Er lijken nu twee verklaringen mogelijk:

- 1) Complexering van het koper wordt gestimuleerd door het toegevoegde fosfaat of er vindt direct complexering aan het fosfaat plaats.
- 2) Door een lagere fosfaatconcentratie ontstaat bij de *Chlamydomonas*-cellen, een grotere gevoeligheid voor koper.

Deze punten worden hierna besproken.

De giftigheid van 1 μg koper l^{-1} die *Steeemann Nielsen* e.a. (1970) voor *Chlorella* aantoonde, zie inleiding, kon in onze experimenten met *Chlamydomonas* niet worden bevestigd.

Hun proeven werden uitgevoerd in een zoetwatermedium, waarin de noodzakelijke zouten tot een minimum zijn beperkt en waarbij alle complexerende stoffen zijn weggelaten. In zeewater bevindt koper zich echter meestal gecomplexed aan organisch materiaal (*Slowey* e.a. 1967). In het kunstmatig bereide zeewater dat bij onze toetsen is gebruikt zit geen organisch materiaal maar bevinden zich wel veel stoffen die met koper anorganische complexen kunnen vormen (zie artikel v. Duin). Volgens berekeningen zou het toegevoegde koper in onze proeven, zelfs bij een concentratie van 2 mg l^{-1} , volledig kunnen complexeren met een van deze anorganische stoffen. Van Duin meet een zeer snelle afname van koperionen wanneer aan een oplossing van koper in gedistilleerd water, kunstmatig zeewater wordt toegevoegd. (v. Duin 1972).

Uit figuur 2 blijkt dat in aanwezigheid van toegevoegd fosfaat bij alle getoetste concentraties nog remming van de groei wordt waargenomen. De verschillen gedurende de eerste uren van de proef kunnen wijzen op het toxische effect van koper in ion-vorm, dat niet onmiddellijk is gecomplexed. Dat echter na twee dagen een duidelijke remming blijft optreden, wijst erop dat óf complexgebonden koper toch giftig is óf dat een klein deel van het koper als ion aanwezig blijft.

De *Chlamydomonas* cellen hebben bij de aanvang van de toets in alle gevallen dezelfde voorgeschiedenis. Door de overmaat fosfaat tijdens het kweken zullen de algen fosfaat hebben opgeslagen, daar zij in staat zijn tot een zg. „luxury consump-

tion”, waarbij meer fosfaat wordt opgenomen dan direct wordt verbruikt (*Mackereth* 1953).

Wanneer het in de cel opgeslagen fosfaat wordt verbruikt, omdat minder fosfaat in het medium aanwezig is, treedt een verandering in het metabolisme op. Het is mogelijk dat hierbij een grotere gevoeligheid voor koper optreedt die deels veroorzaakt kan zijn door verminderde uitscheiding van organische stoffen, deels door een andere stikstof-fosforverhouding in de cel. Dit laatste kan aanleiding zijn tot vertraging in de groei (*Kuenzler* e.a. 1962).

Zuurstofproductie is een afgeleide grootte van het proces der primaire produktie. Als de groei van de cellen wordt geremd, zal dit eveneens een verminderde zuurstofproductie tot gevolg hebben.

Bij de zuurstofproduktietoets (figuur 3) wordt 16 uur nadat de algen in het toetsmedium zijn gebracht, begonnen met de meting. Het is bij deze toets, evenals bij de celvermeerderingstoets, mogelijk dat door de algen in het medium zonder toegevoegd fosfaat reeds een deel van het in de cel opgeslagen fosfaat is verbruikt.

De duidelijke verschillen in toxiciteit die vooral bij de hoogste koperconcentraties ontstaan, tussen de algen in een medium met en zonder toegevoegd fosfaat, wijzen er ook hier op dat de samenstelling van het toetsmedium, mede door zijn chemische eigenschappen, de uitkomsten van een toxiciteitstoets ernstig beïnvloedt.

De orde van grootte van de effecten kan men duidelijk maken door de koperconcentratie te berekenen waarbij 50% remming optreedt. Dit is bij de zuurstofproductie exact mogelijk over de gehele waarnemingsperiode. Bij de celvermeerdering neemt de remming met de tijd toe. Tot 48 uur heeft men echter nog min of meer een logaritmische groeifase, zodat de remming na 48 uur met enige benadering kan worden bepaald. Deze resultaten zijn in tabel 1 verzameld, waarbij de IC_{50} wordt gedefinieerd als de koperconcentratie waarbij 50% remming optreedt.

Tabel 1. Remming van celvermeerdering en zuurstofproductie onder invloed van fosfaat (IC_{50}).

	Cu in μg l^{-1}	
	Celvermeerdering (48 h.)	Zuurstofproductie
met fosfaat	ca. 375	480
zonder fosfaat	ca. 200	175

In de uitgevoerde toetsen is koper in geen enkel geval dodelijk voor *Chlamydomonas*. Dit lijkt verklaarbaar uit de grote complexeringsmogelijkheden die in deze toetsen aanwezig zijn.

Wanneer deze experimenten worden vergeleken

met in de natuur voorkomende toestanden, dan blijkt dat de hoge celconcentraties zoals deze in de toets worden gebruikt in de natuur niet voorkomen. Verder zal onder natuurlijke omstandigheden het zeewater meer organische stof bevatten en zullen zelden zulke hoge koperconcentraties voorkomen. Omdat in natuurlijk zeewater meer stoffen voorkomen die als complexvormers kunnen optreden dan in kunstmatig zeewater en omdat de koperconcentraties veel lager zullen zijn dan de in deze proeven getoetste concentraties, is het niet waarschijnlijk dat koper in zeewater giftig zal zijn voor *Chlamydomonas*. Het maximaal optredende effect zal een geringe vertraging in groei en daardoor ook een tijdelijk verminderde zuurstofproductie zijn. *Chlamydomonas* is echter slechts één vertegenwoordiger uit het fytoplankton en andere soorten zullen wellicht heel anders reageren, zodat uit deze gegevens zeker nog geen algemeen effect mag worden afgeleid.

Om een natuurlijke toestand zoveel mogelijk te benaderen wordt op het ogenblik een toetsopstelling ontwikkeld waarbij met lagere algenconcentraties kan worden gewerkt. In een continue cultuur worden hiervoor de toxische stof en het toetsmedium voortdurend ververs, waardoor de toets kan worden uitgevoerd in een milieu dat zo min mogelijk verandert.

De toetsen die in deze publikatie zijn vermeld,

werden uitgevoerd door Miss J. M. Bevan en de heer H. Oldersma.

Literatuur

- Duin, P. J. van 1972.
De fysische chemie van koper in zeewater.
TNO-Nieuws (dit nummer).
- Geering H. R.; Hodgson J. F. 1969.
Micronutrient cation complexus in soil solution. III
Characterization of soil solution ligands and their complexes with Zn^{2+} en Cu^{2+} .
Soil Sci. Soc. Amer. Proc. 33 (1), 54-59.
- Kuenzler E. J.; Ketchum B. H. 1962.
Rate of phosphorous uptake by *Phaeodactylum tricornutum*.
Biol. Bull. Mar. Biol. Lab.; Woodshole 123, 134-145.
- Mackereth F. J. 1953.
Phosphorus utilization by *Asterionella formosa*.
J. Exp. Bot. 4, 296-313.
- Ryther J. H.; Dunstan W. M. 1971
Nitrogen, phosphorus and eutrophication in the coastal marine environment.
Science 3975, 171, 1008-1013.
- Schindler D. W. et al. 1971.
Eutrophication of lake 277, experimental lake area, northwestern Ontario, by addition of phosphate and nitrate.
J. Fish. Res. Bd. Canada 28 (11), 1763-1782.
- Slowey J. F.; Jeffrey L. M.; Hood D. W. 1967
Evidence for organic complexed copper in sea water.
Nature 124, 377-378.
- Stemann Nielsen E.; Wium Anderssen S. 1970.
Copper ions as poison in the sea and in freshwater.
Mar. Biol. 6 (2), 93-97.

De invloed van koper op de watervlo *Daphnia Magna*

Mej. D. M. M. ADEMA,
Mevr. Th. A. M. DE GROOT-VAN ZIJL
Centraal Laboratorium TNO

The influence of copper on the water flea *Daphnia Magna*

Samenvatting

Naast enkele beschouwingen over algemene factoren die het kweken van daphnia's en het uitvoeren van toxiciteitstoetsen beïnvloeden, wordt een aantal toetsen besproken, uitgevoerd om de invloed van koper op daphnia's te bepalen.

In acute toxiciteitstoetsen met proeftijden tot 96 uur, waarbij de dieren niet worden gevoerd, werden LC_{50} waarden van 25 t/m 65 μg koper l^{-1} gevonden, afhankelijk van de proefduur en de leeftijd van de daphnia's.

In een langdurende toxiciteitstoets, waarbij de dieren gevoerd worden, blijkt koper invloed te hebben op de reproductie van daphnia's vanaf een toegevoegde hoeveelheid koper van 10 μg l^{-1} . Hierbij wordt echter door adsorptie een gedeelte van het koper via het voedsel toegediend. Vers toegevoegd koper (als koper II chloride) blijkt een veel grotere toxische invloed op de daphnia's te hebben dan het reeds in het zogenaamde „blanco medium” aanwezige koper. Terwijl het kopergehalte van het „blanco medium” kan variëren van 10 t/m 50 μg l^{-1} zonder dat hiervan een effect wordt gevonden, wordt bij een toevoeging van 10 à 18 μg l^{-1} altijd een ongunstig effect gevonden. Voor accumulatieonderzoek zijn daphnia's minder geschikt dan voor toxiciteitsonderzoek, zowel door hun geringe biomassa als door hun gevoeligheid voor koper.

Voorzover toch bepaald, blijkt de accumulatie in daphnia's, die zich ontwikkeld hadden in maximaal verdraagbare koperconcentraties, gering te zijn en van weinig belang in een voedselketen. Op min of meer kunstmatige wijze kan wel relatief veel koper aan daphnia's gebonden worden. Het is echter niet bekend of zij hiermee dan in leven kunnen blijven.

1. Inleiding

Daphnia's (watervlooien) zijn bijzonder geschikte proefdieren voor het onderzoek naar de toxiciteit in zoetwater van mogelijke giftige stoffen, zowel door hun biologische eigenschappen (Anderson 1944) als door hun gevoeligheid voor omgevingsfactoren. Van hun biologische eigenschappen kunnen b.v. worden genoemd: zij zijn relatief klein, namelijk maximaal 5 mm; hun totale levensduur is ongeveer 2 maanden; zij zijn volwassen in 6 à 8 dagen, waarna de eerste jongen geboren worden; zij krijgen vervolgens elke 2^{1/2} dag jongen, afhankelijk van de leeftijd van de moeder tussen ongeveer 6 en 50 stuks per worp. De jongen worden parthenogenetisch geproduceerd en zijn dus genetisch identiek. (Deze waarden zijn opgegeven voor

Summary

Apart from some considerations concerning general factors which influence the raising of daphniae and the performance of toxicity tests, a discussion is given of a number of tests to determine the influence of copper on daphniae.

In acute toxicity tests lasting up to 96 hours, during which the animals are not fed, LC_{50} values from 25 to 65 μg of copper per litre were found, depending on the duration of the test and on the age of the daphniae.

In a chronic toxicity test, during which the animals are fed, copper appears to influence the reproduction of the daphniae in amounts from 10 μg l^{-1} upwards. During such tests, however, part of the copper is administered via adsorption on the food. Freshly added copper (as copper(II)chloride) appears to have a much greater toxic influence on the daphniae than the copper already present in the so-called „blank medium”. Whereas the copper content of the „blank medium” can vary from 10 to 50 μg l^{-1} without having any effect, the addition of 10 to 18 μg l^{-1} always produces an adverse effect.

Daphniae are less suitable for accumulation tests than for toxicity tests, in view of their slight biomass as well as of their sensitivity to copper. In so far as it has been determined, the accumulation of copper by daphniae grown in media containing the maximum tolerable amount of copper, appeared to be slight, and of little importance in food chains.

In more or less artificial ways, daphniae can be made to take up relatively large amounts of copper. It is not known, however, whether they will then survive.

kulturen die onder optimale omstandigheden gekweekt worden.)

Verder zijn daphnia's vertegenwoordigers van de „kleine crustaceën”, een diergroep welke een belangrijke voedselbron is voor kleine vissen. Hun gevoeligheid voor omgevingsfactoren blijkt o.a. uit het feit, dat veel onderzoekers niet in staat zijn daphnia's gedurende lange tijd onder gekontroleerde omstandigheden te kweken (D'Agostino en Provasoli 1970). Mede wegens hun gevoeligheid echter worden zij veel gebruikt in toxiciteitsonderzoek (o.a. Anderson 1944 en 1948; Freeman en Fowler 1953; Seume 1958; Dewey en Parker 1964; Parker e.a. 1970; Crosby en Tucker 1966).

Het zal duidelijk zijn dat het kweken van de dieren in het laboratorium in een synthetisch bereid medium een groot voordeel is voor betrouwbare

en reproduceerbare toxiciteitstoetsen (Taub en Dollar 1964).

Het — over een lange tijd — kunnen kweken zonder degeneratieverschijnselen e.d. is bovendien zeer gewenst indien andere criteria dan mortaliteit in een kortdurende toets bij de beoordeling van een toxische stof worden betrokken. Vooral voor invertebraten is dit van belang (Sprague 1970).

Op ons laboratorium beschikken wij over een cultuur van *Daphnia magna*, welke reeds gedurende 5 jaar gekweekt wordt in „Standard reference water” (Freeman 1953), een synthetisch, mineraal medium. De daphniakulturen worden uitsluitend gevoerd met de — axenisch gekweekte — ééncellige alg *Chlorella pyrenoidosa*, maar zijn niet bacterievrij. Het is dus mogelijk toxiciteitsproeven uit te voeren over elke gewenste tijdsduur en b.v. over meerdere generaties, waarbij de totale ontwikkelingscyclus van een cultuur bekeken kan worden ten opzichte van een blanco.

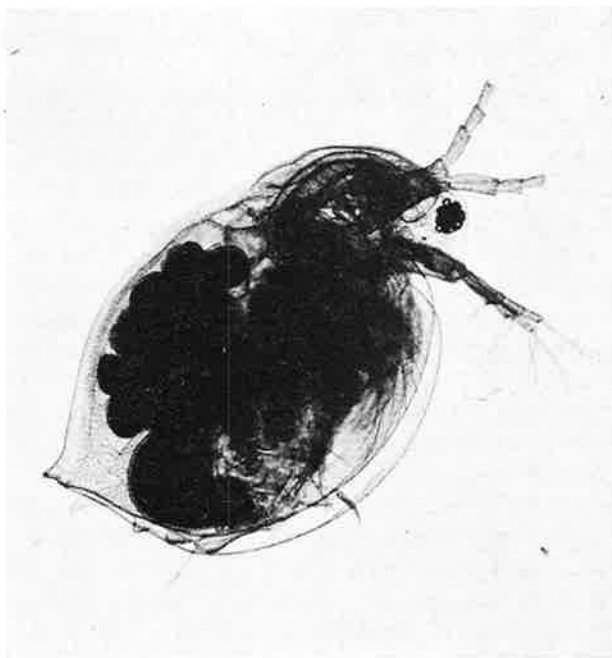
In verband met het totale project werden deze dieren gebruikt bij toxiciteitsonderzoek van zware metalen, waarbij koper als eerste werd onderzocht. De opzet van het project bracht mee dat tevens accumulatie van dit metaal in de dieren werd nagegaan. Voor dit laatste bleken zij minder geschikt. Zowel van de toxiciteitstoetsen als van de accumulatie-toetsen worden hier enige voorbeelden gegeven.

2. Materialen en methoden bij het toxiciteitsonderzoek

2.1. De proefdieren

Er zijn veel factoren die de ontwikkeling van een laboratoriumcultuur van daphnia's beïnvloeden. De belangrijkste hiervan moet men bij toxiciteitsonderzoek op zijn minst standaardiseren. Om echter afwijkingen, welke veroorzaakt worden door een toegevoegde — eventueel toxische — verbinding, goed te kunnen waarnemen, wordt bovendien gestreefd naar optimale omstandigheden voor overleving, groei en reproductie. De belangrijkste factoren, welke van invloed zijn, worden hier vermeld en voorzien van enkele opmerkingen.

- Medium. Uit 2 synthetische minerale media namelijk „Standard reference water” (Freeman 1953) en een medium volgens Flückiger (Flückiger 1949), welke beide goed voldeden, werd het eerstgenoemde uiteindelijk als standaardmedium gekozen.
- Voedsel. Als voedsel werd de ééncellige groene alg *Chlorella pyrenoidosa* gekozen. Deze wordt eveneens gekweekt in een synthetisch mineraal medium en voldoet uitstekend als voer, zoals blijkt uit vergelijkingen van onze cultuurresultaten met die in de literatuur.
- Temperatuur. Een temperatuur van $(22 \pm 2)^{\circ}\text{C}$ is op grond van literatuurgegevens gekozen.



Daphnia magna (watervlo)

Daphnia magna (water flea)

- Zuurstofgehalte. Dit wordt — zonodig door beluchten — op 100% gehouden.
- Aantal daphnia's per volume-eenheid medium. Het aantal daphnia's, de hoeveelheid medium en de hoeveelheid voedsel vormen 3 factoren die met elkaar samenhangen. De optimale combinatie daarvan, bij de gegeven overige omstandigheden werd bepaald. Gevonden werd dat 25 daphnia's per liter, met als voedsel ongeveer 10^8 à 10^9 algencellen (hoeveelheid afhankelijk van de grootte van de daphnia's) een zeer goede combinatie voor groei en reproductie vormen. Zowel te veel als te weinig voedsel beïnvloedt vooral de eiproductie ongunstig (Dewey en Parker 1964; Hueck en Adema 1968).
- Schoonhouden van het medium. Het medium vervuult tijdens het kweken van de daphnia's, door uitscheidingsprodukten, resten voedsel enz. Dit heeft op den duur een ongunstige invloed. Het medium moet dus op de een of andere wijze regelmatig ververst worden. Dit kan op verschillende manieren gebeuren. B.v. a) men kan alle dieren overzetten in schoon medium b) men kan regelmatig een deel van het medium vervangen door schoon medium c) men kan de dieren in een doorstroomsysteem houden. Gevonden werd dat te frekwent overzetten in schoon medium de cultuur ongunstig beïnvloedt. Een frekwentie van $1 \times$ per 3 dagen wordt nog juist zonder nadelige gevolgen verdragen. Te snel doorstromen, b.v. meer dan $4 \times$ het eigen volume per dag, is eveneens ongunstig. Afhankelijk van de proefopzet werd een van deze systemen gebruikt.

2.2. De toetsmethoden

2.2.1. Algemene opmerkingen

De resultaten van een toxiciteitstoets zijn nooit absoluut. Allerlei factoren zoals de samenstelling van het medium (pH, hardheid, aanwezigheid van andere ongunstige verbindingen b.v. door vervuiling), het zuurstofgehalte en de temperatuur van het medium beïnvloeden de resultaten.

Bij vergelijkend routine-onderzoek naar de toxiciteit van bepaalde verbindingen worden dergelijke factoren meestal gestandaardiseerd, hoewel het natuurlijk ook mogelijk is juist de invloed van een of meer van deze factoren op de toxiciteit van een verbinding na te gaan.

Het hier beschreven onderzoek met daphnia's en koper is in het algemeen onder gestandaardiseerde omstandigheden, gegeven door de eisen die een optimale cultuur stelt (zie § 2.1), uitgevoerd. Belangrijke punten verder de leeftijd van de proefdieren, de proefduur en de keuze van toxiciteitscriteria. Ook deze factoren kan men standaardiseren of juist onderzoeken. Een lange proeftijd zal in het algemeen te verkiezen zijn boven een korte. Men moet de lengte van de proeftijd echter wel in verband brengen met de ontwikkelingsnelheid en de totale levensduur van het proefdier. Voor daphnia's b.v. is een proefduur van 2 à 3 weken lang, namelijk 2 à 3 maal de tijd waarin ze onder normale omstandigheden volwassen zijn en dus voldoende lang om afwijkingen waar te nemen.

Reproductie is in het algemeen een zeer gevoelig criterium voor toxiciteit (*Sprague* 1971). Dit is echter alleen te gebruiken indien de proefdieren onder laboratoriumomstandigheden goed gekweekt kunnen worden. Bij daphnia's is dit het geval. Een factor van geheel andere aard, welke tot misleidende resultaten kan leiden, is de werkelijk aanwezige concentratie van de toetsverbinding in het medium tijdens de proef. Een chemische controle hierop is noodzakelijk. In veel gevallen zal dan blijken, zoals in het inleidende artikel is uiteengezet, dat bij een eenmalige dosering, de toegevoegde hoeveelheid snel afneemt, soms zelfs binnen enkele uren. Hierbij spelen een rol: adsorptie aan proefbakken, voedsel, proefdieren, uitwerpselen enz.; verdamping of codestillatie; actieve opname in de dieren, enz.

Het gebruik van doorstroomsystemen, het regelmatig vernieuwen van het medium door medium met de juiste concentratie van de toetsverbinding of het korrigeren van de verlaagde concentraties door extra toevoegingen zijn dan noodzakelijk, indien men wil kunnen spreken over toxiciteit bij een zekere concentratie. Deze handelingen kunnen echter op zich zelf een invloed hebben op de toxiciteit.

Bij het hier beschreven toxiciteitsonderzoek met koper en daphnia's werden zeer frekwent koper-

analyses uitgevoerd met behulp van een autoanalyser (*Brouwer* 1970). Hierbij werd in alle gevallen reeds een duidelijk kopergehalte gevonden in het „blanco medium”, d.w.z. zonder dat er koper was toegevoegd. Dit gehalte bedroeg meestal ongeveer $20 \mu\text{g l}^{-1}$, maar waarden tussen 10 en $50 \mu\text{g l}^{-1}$ zijn voorgekomen. Deze gehalten zijn van dezelfde grootte-orde als de toevoegingen, waarbij de effecten optreden. Het kopergehalte van het „blanco medium” is reeds aanwezig in het gedestilleerde water waarmee het „Standard reference water” wordt bereid. Voor routine-onderzoek is het onmogelijk zeer zuiver water te gebruiken. Voor een enkele toets is het sinds korte tijd mogelijk „Standard reference water” te bereiden met niet meer dan $2 \mu\text{g koper l}^{-1}$.

De indruk bestaat echter dat de reeds aanwezige hoeveelheid koper van $10\text{-}50 \mu\text{g l}^{-1}$ geen of slechts een geringe bijdrage levert tot de toxische werking van het toegevoegde koper. Onafhankelijk van het kopergehalte van het „blanco medium” worden effecten gevonden afhankelijk van de toegevoegde hoeveelheid. Dit is de reden dat de resultaten in het algemeen betrokken zijn op de toegevoegde hoeveelheden koper en niet op de gemiddelde, tijdens de proefduur, gemeten kopergehalten, hoewel deze wel bij alle proeven bepaald zijn.

2.2.2. Beschrijving van de gebruikte methoden

Tenzij anders vermeld, werd koper toegevoegd als koper (II) chloride aan het „Standard reference water”, in de concentraties 0, 10, 18, 32, 56 en $100 \mu\text{g l}^{-1}$. Het gewenste aantal daphnia's werd met de hand uitgeteld en toegevoegd aan het medium met koper. In kortdurende proeven — tot 96 uur — werden de daphnia's niet gevoerd, ze konden dus ook niet of nauwelijks groeien. Hierbij werd gewerkt met 100 dieren van een bepaalde leeftijd in 1 l medium, dat niet ververst werd tijdens de proef. De levenden en/of doden werden dagelijks geteld. Het criterium voor toxiciteit is dus mortaliteit. Meestal wordt een zogenaamde LC_{50} of TL_m waarde berekend (*Sprague* 1969). Alle proeven werden in duplo uitgevoerd. In langdurende proeven werden de daphnia's gevoerd zoals beschreven in § 2.1. Begonnen werd dan met daphnia's, jonger dan 24 uur, die zich in blanco medium normaal ontwikkelden tot volwassen dieren. Het medium werd 1 x per 3 dagen geheel ververst. Direct voor en na het verversen werd het kopergehalte van alle kulturen in duplo bepaald. Bij het verversen werden de dieren geteld en beoordeeld. Eventueel geboren jongen werden geteld en verwijderd. Een verhouding van 25 daphnia's per liter (zie § 2.1.) werd aangehouden (meestal werd gewerkt met 25 per liter of met 100 in 4 l). Alle proeven werden in duplo uitgevoerd. Behalve mortaliteit kan in deze langdurende toetsen nu ook reproductie als maat voor de toxiciteit worden gebruikt.

3. Resultaten van het toxiciteitsonderzoek

3.1. Kortdurende toxiciteitstoetsen

Voor daphnia's en koper werden als eerste oriëntatie LC_{50} waarden bepaald in kortdurende toetsen, en wel met daphnia's van 2 verschillende leeftijden bij het begin van de proef. Voor de resultaten zie tabel 1.

Tabel 1. LC_{50} waarden in $\mu\text{g l}^{-1}$, berekend op toegevoegd¹⁾ koper.

leeftijd daphnia's bij begin van de proef	proefduur	
	48 uur	96 uur
< 1 dag	65	50
6 à 7 dagen	30	25

¹⁾ Het blanco medium bevatte in dit geval reeds $20 \mu\text{g koper l}^{-1}$ (zie hier-voor § 2.2.).

Bij verlenging van de proefduur worden de LC_{50} waarden lager, zoals te verwachten is. Daphnia's van ongeveer een week oud blijken gevoeliger te zijn dan pasgeboren daphnia's.

Het is bij proeven met dergelijke kleine dieren echter waarschijnlijk dat reeds bij deze korte proeftijden voedselgebrek een secundaire stress heeft uitgeoefend. Natuurlijk kan voedsel worden toegevoegd en bij langere proeven is dit onvermijdelijk. Toetsen zonder voedsel hebben echter ook voordelen. Men meet dan alleen de invloed van het toxisch agens via de waterfase, terwijl bij toevoeging van algen een gedeelte van het koper geadsorbeerd wordt aan de algencellen en dus via het voedsel wordt toegevoegd. Bovendien daalt door deze adsorptie de concentratie van het koper in het water. In afzonderlijke nauwkeurige proeven hierover is b.v. gebleken, dat bij de in toxiciteitstoetsen gebruikelijke handelwijze en bij een toevoeging van $56 \mu\text{g koper l}^{-1}$, ongeveer de helft hiervan onmiddellijk na toevoegen aan de algen is geadsorbeerd. Uit gelijksoortige proeven over een directe adsorptie aan de daphnia's bleek dat deze, voorzover meetbaar via de concentraties in het water, te verwaarlozen is, tenzij extreme verhoudingen van daphnia's en medium worden gebruikt. Ook adsorptie aan de proefbakken e.d. is bij dit onderzoek nooit in duidelijke meetbare hoeveelheden aangetoond. Verlies van koper uit de waterfase komt bij dergelijke toxiciteitstoetsen dus geheel voor rekening van adsorptie aan het voedsel en de hieruit ontstane uitwerpselen e.d.

Uit het voorgaande zal duidelijk zijn dat men bij langdurende proeven niet anders kan doen dan de combinatie medium met koper, daphnia's en voer als één geheel te bekijken, waarbij dan vanzelf de ontwikkeling van de daphnia's bij de beoordeling wordt betrokken. In natuurlijke omstandigheden

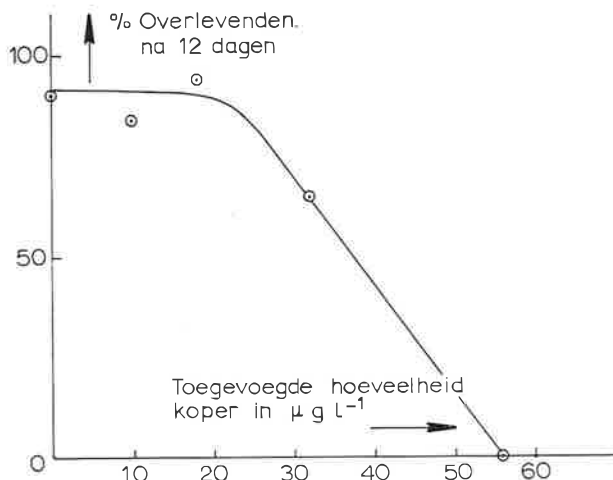


Fig. 1. Mortaliteit van de eerste generatie (P generatie) onder invloed van koper na 12 dagen.

Mortality of first generation (P generation) as a result of exposure to copper for 12 days.

↑ % surviving mussels after 12 days

→ Amount of copper added in $\mu\text{g l}^{-1}$

zal het voedsel van proefdieren ongetwijfeld ook gecontamineerd zijn door het toxisch agens. Milieu-toxicologisch zal men dus met deze factor rekening moeten houden bij het vaststellen van het tolerantieniveau. Voor een snelle vergelijking van bijkomende factoren als pH en zuurstofspanning zijn eventueel zeer kortdurende toetsen uit te voeren zonder de complicatie van de adsorptie van het toxisch agens aan het voedsel.

Standaard LC_{50} toetsen, zoals beschreven voor vissen (*Standard methods* 1965) lijken echter niet zonder meer geschikt voor daphnia's (zie ook Sprague 1970).

3.2. Langdurende toxiciteitstoetsen

De volgende proef werd uitgevoerd met 100 daphnia's in 4 l medium, welke over 3 generaties in hun ontwikkeling werden gevolgd tot ze per generatie driemaal jongen hadden gekregen. De resultaten van deze toets worden weergegeven in de grafieken 1 t/m 3 en de tabellen 2 t/m 4.

Fig. 1 geeft de mortaliteit na 12 dagen weer, ten opzichte van de toegevoegde hoeveelheid koper. Zoals uit deze grafiek blijkt, is er een duidelijke invloed vanaf een toegevoegde hoeveelheid van $32 \mu\text{g l}^{-1}$.

In fig. 2 is bij dezelfde koperconcentratie en na eenzelfde aantal dagen, de reproductie (= $\frac{\text{aantal jongen}}{\text{aantal ouders}}$) uitgezet. Hierbij blijkt er reeds

een duidelijke invloed vanaf een toegevoegde hoeveelheid van $10 \mu\text{g l}^{-1}$ te zijn. Men kan zich echter voorstellen dat de reproductie slechts vertraagd is ten opzichte van de blanco, terwijl er op den duur wel evenveel jongen worden geboren. Om dit na te gaan, kregen de daphnia's in elke cultuur de tijd om driemaal jongen te krijgen (welke immers

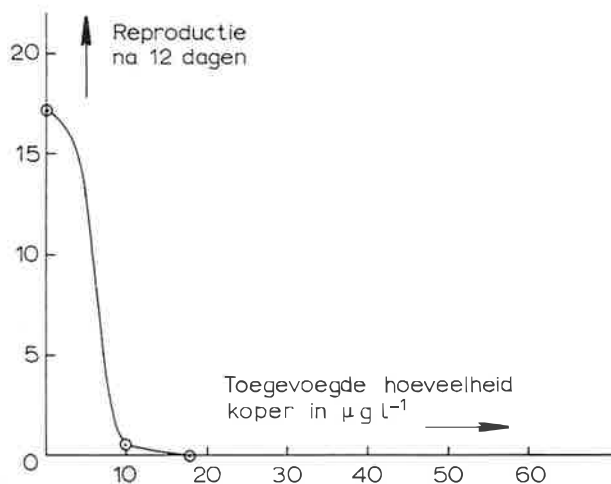
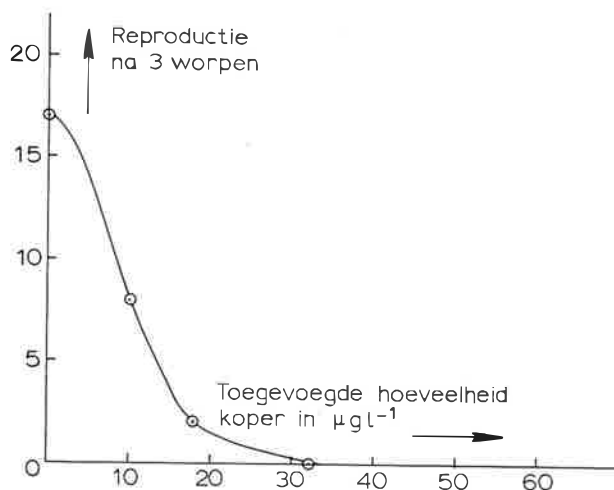


Fig. 2. $\text{Reproductie} = \frac{\text{aantal jongen (F1)}}{\text{aantal ouders (P)}}$
 onder invloed van koper na 12 dagen.
 $\text{Reproduction} = \frac{\text{number of young (F1)}}{\text{number of parents (P)}}$
 after 12 days of exposure to copper, as a function
 of copper concentration.
 ↑ Reproduction after 12 days
 → Amount of copper added in $\mu\text{g l}^{-1}$

Fig. 3. $\text{Reproductie} = \frac{\text{aantal jongen (F1)}}{\text{aantal ouders (P)}}$
 onder invloed van koper, na 3 worpen jongen.
 $\text{Reproduction} = \frac{\text{number of young (F1)}}{\text{number of parents (P)}}$
 after 3 broods as a function of copper concentration.
 Tijd nodig voor 3 worpen jongen:
 Bij de blanco : 12 dagen
 bij een toevoeging van $10 \mu\text{g l}^{-1}$: 24 dagen
 bij een toevoeging van $18 \mu\text{g l}^{-1}$: 34 dagen
 bij een toevoeging van $32 \mu\text{g l}^{-1}$: » 21 dagen
 Time needed for 3 broods of young:
 blank : 12 days
 $10 \mu\text{g l}^{-1}$ added copper: 24 days
 $18 \mu\text{g l}^{-1}$ added copper: 34 days
 $32 \mu\text{g l}^{-1}$ added copper: » 21 days
 ↑ Reproduction after 3 broods
 → Amount of copper added in $\mu\text{g l}^{-1}$



worps-gewijs worden geboren). De resultaten hiervan worden weergegeven in fig. 3. Hieruit blijkt, dat — bij deze proefopzet — zowel het totale aantal jongen als de tijd waarna deze worden geboren, beïnvloed worden vanaf een toevoeging van $10 \mu\text{g koper l}^{-1}$. De juiste vorm van de grafieken is bij het geringe aantal punten niet te geven. Ze zijn slechts bedoeld als een schets. De punten steunen echter op meer waarnemingen in gelijksoortige proeven dan hier vermeld. Een indruk van het verloop van de sterfte in het begin van de proef geeft tabel 2.

Tabel 2. Percentage overlevenden na verschillende tijden.

toegevoegde hoeveelheid koper in $\mu\text{g l}^{-1}$	proefduur in dagen			
	3	6	9	12
0	100	100	95	95
10	100	100	95	85
18	100	100	95	95
32	95	95	80	65
56	45	0	—	—
100	5	0	—	—

De werkelijk bereikte kopergehalten in het water en dus het verloop tussen 2 verversingen worden gegeven in tabel 3.

Tabel 3. Verloop van de kopergehalten in $\mu\text{g l}^{-1}$ tussen 2 verversingen van het medium.

toegevoegde hoeveelheid koper	bepaald (gemiddelde uit alle waarnemingen)		hoeveelheid koper, aanwezig in de waterfase, gemiddeld over de proefduur
	vóór verversen (in vuil medium)	nà verversen in schoon medium	
0	8	11	10
10	14	19	16
18	17	25	21
32	20	40	30

Uit tabel 3 blijkt zowel de invloed van het kopergehalte van het „blanco medium” als de adsorptie aan voedsel e.d. Deze beide factoren zijn reeds besproken.

Met de tweede worp van de oorspronkelijke dieren (genoemd F1.2) en met de tweede worp van deze F1.2 (genoemd F2.2.2) werd eenzelfde toets uitgevoerd. Dit was alleen mogelijk met de cultuur in „blanco medium” en die met een toevoeging van $10 \mu\text{g koper l}^{-1}$. Immers reeds vanaf een toevoeging van $18 \mu\text{g koper l}^{-1}$ werden nooit tegelijk voldoende jongen geboren (zie grafiek 3). De resultaten met deze opvolgende generaties zijn vermeld in tabel 4.

De resultaten met de F1.2 generatie komen ongeveer overeen met die van de oorspronkelijke P ge-

Tabel 4. Invloed van koper op de F1.2 en F2.2.2 generatie van daphnia's in een langdurende toxiciteitstoets.

generatie	toegevoegde hoeveelheid koper in $\mu\text{g l}^{-1}$	% overlevenden na 12 dagen	reproductie		tijd, nodig voor 3 worpen jongen, in dagen
			na 12 dagen	na 3 worpen jongen	
P	0	95	17	17	13
	10	85	0,5	9	24
F1.2	0	90	8	15	15
	10	65	1	8	17
F2.2.2	0	95	0	7	19
	10	85	0,5	7	18

neratie. De mortaliteit bij $10 \mu\text{g koper l}^{-1}$ is iets groter en de reproductie in de „blanco” is iets vertraagd ten opzichte van de P generatie. Bij de F2.2.2 generatie treedt een duidelijke vertraging in reproductie op bij de „blanco”, zodat hier de toevoeging van $10 \mu\text{g koper l}^{-1}$, gemeten ten opzichte van deze „blanco”, geen invloed heeft op de daphnia's. Hierop wordt in de discussie nader teruggekomen.

3.3. Invloed van het anion

In een langdurende toets, met 25 daphnia's per liter medium, uitgevoerd over één generatie, werd nagegaan of er een invloed van het anion is op de kopertoxiciteit. Getoetst werden, in vergelijking met elkaar: koperchloride, kopersulfaat, koperacetaat en kopercitraat. Er werd géén meetbare invloed van het anion gevonden. Kopercitraat, waarvan in andere proeven enkele aanwijzingen voor verhoogde toxiciteit zijn verkregen, wordt nog nader onderzocht.

3.4. Minimum benodigde hoeveelheid koper

Behalve een toxische werking in hoge concentraties, is het mogelijk dat er een minimum hoeveelheid koper nodig is voor een normale ontwikkeling van daphnia's, gegeven het feit dat koper voor veel organismen een essentieel sporenelement is. Dit kan men alleen nagaan indien het uitgangsmedium zeer weinig koper bevat. Voor dit doel werd „Standard reference water” bereid dat niet meer dan $2 \mu\text{g koper l}^{-1}$ bevatte. Bij een toets, welke gelijk is aan de beschreven toets in § 3.3, bleek de ontwikkeling van de daphnia-kultuur normaal te zijn bij dit kopergehalte. Hierbij moet men bedenken dat met het voedsel (algen) ook koper wordt toegevoegd, hetgeen vermoedelijk ruim voldoende is voor de eventuele koperbehoefte van de daphnia's. Tevens konden nu lagere toevoegingen dan de gebruikelijke $10 \mu\text{g koper l}^{-1}$ getoetst worden. Bij een toevoeging van $3 \mu\text{g l}^{-1}$ werd noch een gun-

stig noch een toxisch effect waargenomen. Bij een toevoeging van $10 \mu\text{g l}^{-1}$ werden weer toxische effecten gevonden.

4. Methoden en resultaten van het accumulatieonderzoek

Het onderzoek naar een eventuele accumulatie van koper in daphnia's wordt bemoeilijkt door hun gevoeligheid voor koper en hun geringe biomassa. Door hun gevoeligheid voor koper is het niet mogelijk gedurende lange tijd de daphnia's in sterk verhoogde koperconcentraties te kweken of zelfs te houden (vergelijk b.v. tabel 1 en 2). Door hun geringe biomassa heeft men voor een betrouwbare koperbepaling in de dieren een groot aantal nodig, zodat niet bij elke toxiciteitstoets tevens de accumulatie bepaald kan worden.

Om toch enige gegevens over een mogelijke accumulatie te krijgen werden 2 soorten proeven uitgevoerd namelijk a) proeven, waarbij de daphnia's gedurende hun gehele ontwikkeling in contact met relatief lage koperconcentraties in hun medium zijn en b) proeven, waarbij in „blanco medium” voorgekweekte daphnia's gedurende korte contacttijden in oplossingen met hoge koperconcentraties gebracht worden. Van beide wordt een voorbeeld gegeven.

Om de koperophoping in daphnia's in een proef zoals bedoeld onder a) na te gaan werden 10 daphnia's geplaatst in 10 l „Standard reference water”. Er werden 4 verschillende concentraties koper getoetst. De daphnia's werden zoals beschreven in § 2.1. gevoerd. Tweemaal per week werd 5 l medium ververs met schoon „Standard reference water”, teneinde de gewenste concentraties op niveau te houden. Er werden geen daphnia's verwijderd. Op deze wijze groeit een „blanco cultuur” snel uit tot een zeer groot aantal, echter tamelijk kleine, dieren. De resultaten zijn vermeld in tabel 5.

Laboratoriumonderzoek over de invloed van koper op mosselen (*Mytilus edulis*)

Mej. D. M. M. ADEMA,
Mevr. S. I. DE SWAAF-MOOY, Mej. P. BAIS
Centraal Laboratorium TNO

Samenvatting

De invloed van koper op mosselen werd onderzocht in een laboratoriumtoets. Toxiciteit en accumulatie werden bepaald ten opzichte van 8 verschillende koperconcentraties in een doorstroomstelsel met (kunstmatig) zeewater. De proefduur was, indien mogelijk, 30 dagen.

Bij de hogere concentraties, $> 45 \mu\text{g koper l}^{-1}$ zeewater, trad snel sterfte van de mosselen op en vond een snelle accumulatie van koper in de mosselen plaats. Hierbij werden in 3 dagen kopergehalten in de mosselen bereikt van 50 tot $90 \mu\text{g g}^{-1}$ droog mosselvlies. Een vergelijkbaar kopergehalte van „blanco” mosselen is ongeveer $20 \mu\text{g g}^{-1}$. Al deze mosselen stierven voor de tiende proefdag en wel sneller naarmate de koperconcentratie in het zeewater hoger was. Bij $25 \mu\text{g l}^{-1}$ werd in 10 dagen een gehalte in de mosselen van $60 \mu\text{g g}^{-1}$ droog vlees bereikt, waarna de mosselen binnen 30 dagen stierven. Bij $17 \mu\text{g l}^{-1}$ werd in 30 dagen een gehalte van $80 \mu\text{g g}^{-1}$ bereikt, terwijl onder de mosselen juist enige sterfte begon op te treden. Bij $12 \mu\text{g l}^{-1}$, waarbij binnen de proeftijd géén sterfte optrad, werd na 30 dagen een geringe verhoging van het kopergehalte in de mosselen gevonden ($35 \mu\text{g g}^{-1}$). Bij $10 \mu\text{g l}^{-1}$, waarbij eveneens géén sterfte optrad, werd géén koperaccumulatie in de mosselen gevonden, gemeten ten opzichte van de „blanco” mosselen. Getracht werd een eventuele afgifte van eenmaal opgenomen koper na te gaan, door na de ophopingsperiode van 30 dagen, gedurende 30 dagen door te stromen met schoon zeewater. Dit was echter met de gebruikte proefopzet moeilijk na te gaan. Van de mosselen met een duidelijk verhoogd kopergehalte waren er namelijk, door sterfte tijdens en na de ophopingsperiode, te weinig over tijdens het doorstromen met schoon water om een betrouwbare monsternamen mogelijk te maken.

Laboratory investigations concerning the influence of copper on mussels (*Mytilus edulis*)

Summary

The influence of copper on mussels was investigated in a laboratory test. Toxicity and accumulation were determined for eight different copper concentrations in a continuous flow system containing (artificial) sea water. Whenever possible, the duration of the test was 30 days.

At higher concentrations, i.e. $\geq 45 \mu\text{g}$ of copper per litre of sea water, a rapid mortality of the mussels was noticed, and they rapidly accumulated copper. Within three days copper contents varying from 50 to $90 \mu\text{g g}^{-1}$ (based on dry weight) were reached, whereas the copper content of „blank” mussels is about $20 \mu\text{g g}^{-1}$. All the mussels died before the tenth day of the test, the sooner the greater the initial copper concentration in the medium.

At a concentration of $25 \mu\text{g l}^{-1}$ of copper, the mussels accumulated $60 \mu\text{g g}^{-1}$ (based on dry weight) within ten days, and most of them died within 30 days.

At $17 \mu\text{g l}^{-1}$ of copper, a copper content of the mussels of $80 \mu\text{g g}^{-1}$ was reached in 30 days, and there was a beginning of mortality among them.

At $12 \mu\text{g l}^{-1}$ of copper there was no mortality during the test period though after 30 days their copper content was found to be slightly increased ($35 \mu\text{g g}^{-1}$).

At $10 \mu\text{g l}^{-1}$ of copper there was no mortality either, and no accumulation of copper — as compared with „blank” mussels — was found.

An attempt was made to determine the elimination of copper from mussels exposed to copper for 30 days by transferring them to running and clean sea water for another 30 days. However, with the experimental set-up used, this was very difficult, since of those mussels which had accumulated considerable amounts of copper, too many died during the accumulation period, and hence too few were left for reliable sampling during the elimination period.

(Slot van bladzijde 481)

- Crosby, D. G. and Tucker R. K. (1966): Toxicity of aquatic herbicides to *Daphnia magna*. Science 154, 289-290.
- Dewey J. E. and Parker B. L. (1964): Mass rearing of *Daphnia magna* for insecticide bioassay. J. Econ. Entomol. 57 (6), 821-825.
- Flückiger E. and Flück H. (1949): Ein künstliches Milieu für das Züchten von Daphnien im Laboratorium. Experientia 5, 486.
- Freeman L. and Fowler I. (1953): Toxicity of combinations of certain inorganic compounds to *Daphnia magna* Straus. Sewage and Ind. Wastes 25 (10), 1191-1195.
- Freeman L. (1953): A standardized method for determining toxicity of pure compounds to fish. Sewage and Ind. Wastes 25, 845-848.
- Hueck H. J. en Adema D. M. M. (1968): Toxicological investigations bearing on pollution problems in the North Sea. TNO-Nieuws 23, 58-64.
- Parker B. L., Dewey J. E. and Bache C. A. (1970): Carbamate Bioassay Using *Daphnia magna*. J. Econ. Entomol. 63 (3), 710-714.
- Seume F. W. (1958): Ein quantitativer Daphnientest. Nachr. bl. des Pflanzenschutzdienstes 10 (3), 42-44.
- Sprague J. B. (1969, 1970, 1971): Measurement of pollutant toxicity to fish I. Bioassay methods for acute toxicity. Water Research, 3, 793-821. II. Utilizing and applying bioassay results. Water Research, 4, 3-32. III. Sublethal effects and „safe” concentrations. Water Research, Pergamon Press 5, 245-266.

1. Inleiding

Mosselen (*Mytilus edulis*), zijn het belangrijkste proefdier bij het veldwerk dat het Centraal Laboratorium TNO verricht op het Balgzand (zie artikel *De Wolf* in dit nummer). Dit is een van de redenen dat ze ook in het programma van laboratoriumtoetsen, zowel betreffende toxiciteit als accumulatie, zijn opgenomen. De hierbij verkregen gegevens kunnen nu namelijk worden vergeleken met die van de veldproeven, welke onder veel natuurlijker omstandigheden worden verkregen. Dergelijke vergelijkingen zijn in het algemeen voor het laboratoriumwerk op dit gebied van veel belang, omdat het laboratoriumwerk op zichzelf vaak geen absolute waarde heeft (*Sprague* 1971). Hoewel mosselen niet in het laboratorium kunnen worden gekweekt, hetgeen een nadeel is voor het toxiciteitsonderzoek, zijn ze in ieder geval gedurende het gehele jaar buiten te verzamelen op gemakkelijk toegankelijke plaatsen. Het is wel mogelijk in het laboratorium larven te verkrijgen uit volwassen dieren voor aanvullend onderzoek.

Een andere reden voor het gebruik van mosselen in laboratoriumwerk is het feit, dat ze als proefdier dienen in het zogenaamde „meetnet” (zie artikel *De Wolf*), zodat het waardevol is onder te controleren omstandigheden zoveel mogelijk te weten te komen over hun opname- en afgiftesnelheid van persistente stoffen en de maximale concentratie hiervan die ze gedurende een zekere tijd verdragen zonder te sterven.

In dit artikel worden enige resultaten van laboratoriumtoetsen betreffende de toxiciteit en accumulatie van koper ten aanzien van mosselen beschreven.

2. Materialen en methoden

2.1. De proefdieren

De benodigde mosselen werden bij laagwater verzameld te Huisduinen (N.H.). De grootteklasse van 3-3,5 cm werd uitgezocht en gebruikt voor de proeven. Deze mosselen werden gedurende ongeveer een week bij $15 \pm 1^\circ\text{C}$ in synthetisch zeewater gehouden om te verwateren en als controle op hun konditie.

2.2. Proefopzet voor toxiciteits- en accumulatieonderzoek

De opzet van de proef is als volgt: Mosselen worden gedurende een zekere tijd in bakken zeewater met verschillende concentraties van de toetsverbinding — in dit geval koper — gehouden. Daar mosselen echter zeer veel water verpompen (*Dral*, 1967) en in het algemeen een groot accumulatievermogen bezitten (*Keckes*, 1969) is het, in statische of semi-statische systemen, niet mogelijk deze concentraties ook maar enigszins konstant te houden. We vonden b.v. dat 10

mosselen van 3-3,5 cm in 1 l zeewater een kopergehalte van $100 \mu\text{g l}^{-1}$ binnen enkele uren reduceren tot het kopergehalte dat het zeewater had vóór de toevoeging van $100 \mu\text{g l}^{-1}$.

Het gebruik van doorstroomsystemen is met dergelijke dieren voor toxiciteitsonderzoek dus noodzakelijk. Voor doorstroomproeven met grotere dieren zoals vissen, mosselen e.d. wordt op ons laboratorium apparatuur gebruikt zoals beschreven is door *Mount en Brungs* (1967).

Hierbij wordt schoon water in verschillende verhoudingen gemengd met water dat een bepaalde concentratie van de toetsverbinding bevat, waarbij 5 verschillende concentraties en een „blanco” worden verkregen. Deze mengsels worden in principe diskontinu aangemaakt, maar zij kunnen vanaf ongeveer eenmaal per 5 minuten worden aangemaakt in hoeveelheden van ongeveer 0,5 l (afhankelijk van resp. de stroomsnelheid van het „schone water” en de grootte van de apparatuur). Deze hoeveelheid water wordt dan direct aan de proefbakken toegevoegd, terwijl een gelijke hoeveelheid hieruit via een overloop uitstroomt. Voor een beschrijving van de apparatuur wordt verwezen naar genoemde literatuur. Een indruk van de opstelling geeft fig. 1.

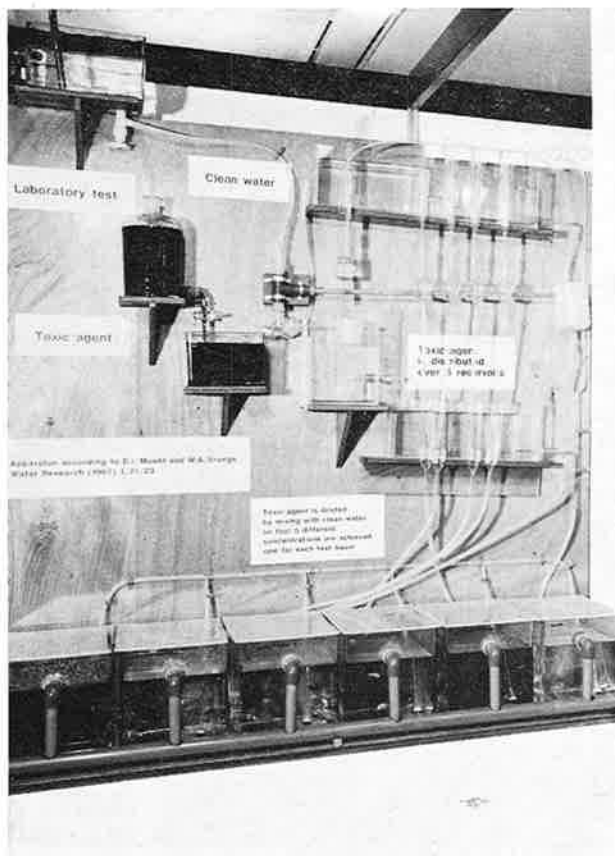


Fig. 1. Opstelling voor het uitvoeren van toxiciteits- en accumulatieproeven met een z.g. „doorstroom” systeem.

Continuous flow system for toxicity and accumulation tests.

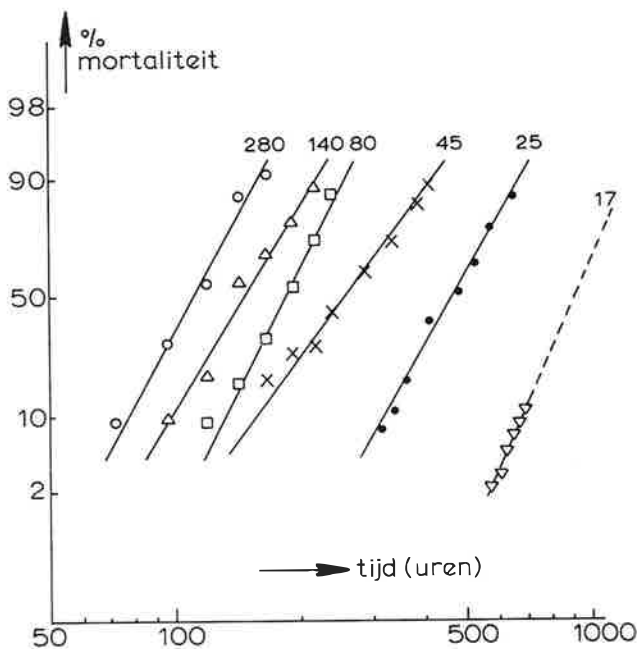
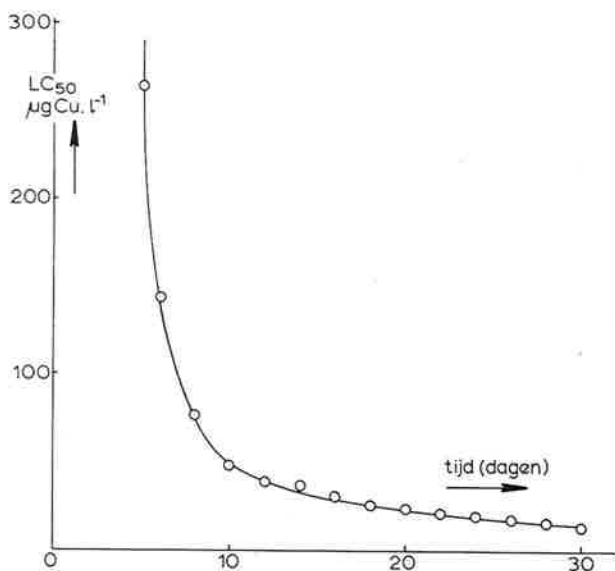


Fig. 2. Mortaliteit van mosselen bij verschillende koperconcentraties ($\mu\text{g l}^{-1}$).
Mortality of mussels in various concentrations of copper ($\mu\text{g l}^{-1}$).
↑ % mortality
→ time (days)

Fig. 3. Mortaliteit van mosselen onder invloed van koper, uitgedrukt in LC_{50} -waarden.
Mortality of mussels, as a result of exposure to copper, expressed in LC_{50} values.
→ time (days)



Bij de hier beschreven proeven met mosselen werden bakken gebruikt met een inhoud van ca. 50 l, terwijl eenmaal per 15 minuten 0,5 l zeeewater werd toegevoegd. Er werd synthetisch zeeewater gebruikt (32,5 g zeezout, fabrikaat H. Wiegandt, per liter leidingwater. Dit water werd gefiltreerd over schelpen en actieve kool en in een hoeveelheid van 10 m³ bewaard bij 15°C).

Koper werd als koper(II)chloride toegevoegd vanuit een stamoplossing. Het in het zeeewater bereikte kopergehalte werd dagelijks bepaald in alle bakken, zowel van het instromende als van het uitstromende water, met behulp van een autoanalyser (Brouwer, 1970). In elke bak werden 200 mosselen, verdeeld in 10 submonsters van 20 stuks, geplaatst. De proeven werden uitgevoerd bij 15°C. Toxiciteit, accumulatie en — eventueel — afgifte van eenmaal opgenomen koper werden in één proef onderzocht. Dit laatste werd gedaan door na een zekere tijd de koperdosering te stoppen en met schoon zeeewater door te stromen.

Als toxiciteitscriterium werd alleen mortaliteit beschouwd. Hiertoe werden elke dag alle mosselen gecontroleerd, waarbij de doden werden geteld en verwijderd.

Voor het nagaan van de accumulatie van koper in mosselen werd uit elke bak op bepaalde tijdstippen namelijk na 0,3, 1, 3, 10 en 30 dagen vanaf het begin van de koperdosering, een monster van 20 stuks genomen. Het vlees van deze mosselen werd gehomogeniseerd, gedroogd en „koud verast”, (met behulp van een Low Temperature Asher, Tracerlab, LTA-600L). De as werd opgelost in 0,02 N zoutzuur. Hierin werd met behulp van de autoanalyser het kopergehalte bepaald. Uit de gegevens werd het kopergehalte van het droge mosselvlees berekend. Analyses in mosselvlees werden slechts uitgevoerd indien het aantal levenden per monster van 20 stuks nog tenminste 16 bedroeg. Om een eventuele afgifte van opgenomen koper na te gaan werd na de eerste 30 dagen de koperdosering gestaakt, terwijl de rest van het doorstroomsysteem normaal doorwerkte. De mosselen stonden dus bloot aan stromend schoon zeeewater met een laag kopergehalte. Ook tijdens deze periode werd na 0,3, 1, 3, 10 en 30 dagen, gerekend vanaf het stopzetten van de koperdosering, een monster mosselen verwijderd en geanalyseerd op kopergehalte. De mortaliteit werd berekend over de eerste periode, terwijl koper gedoseerd werd, uit 100 mosselen, welke gedurende deze gehele periode aanwezig waren.

Op de hier beschreven wijze werden 2 proeven met koper uitgevoerd. Bij de eerste proef werd zoveel koper gedoseerd dat, gemiddeld over de proefduur en over het in- en uitstromende water, concentraties bereikt werden in de 5 proefbakken van 280, 140, 80, 45 en 25 $\mu\text{g l}^{-1}$, terwijl het kopergehalte van het „blanco” zeeewater 8 $\mu\text{g l}^{-1}$ was. Bij de

tweede proef waren de overeenkomstig berekende kopergehalten: 50, 25, 17, 12 en 10 $\mu\text{g l}^{-1}$ bij een „blanco” van 7 $\mu\text{g l}^{-1}$.

3. Resultaten

Uit de dagelijkse koperbepalingen in het zeewater bleek dat de doorstromingsnelheid te gering was om de koperconcentraties geheel konstant te houden. Bij alle concentraties van de eerste proef en de 3 hoogste concentraties van de tweede proef was het kopergehalte van het instromend water altijd hoger dan van het uitstromend water. De concentratie 12 $\mu\text{g l}^{-1}$ van de tweede proef werd gemiddeld zowel in instromend als uitstromend water gevonden. Bij 10 $\mu\text{g l}^{-1}$ en de „blanco's” was het kopergehalte van het uitstromend water gemiddeld iets hoger dan van het instromend water. Dit verschil viel echter nagenoeg binnen de bepalingfout, welke ongeveer 2 $\mu\text{g l}^{-1}$ is. De resultaten zijn samengevat in figuur 2 t/m 6. Voor de kopergehalten werden de gemiddelde waarden van die van het in- en uitstromende water genomen. De mortaliteitsgegevens van beide proeven, voorzover uitgevoerd met vergelijkbare concentraties, kwamen ongeveer met elkaar overeen. Deze zijn samengevat in fig. 2. Hierin werd zoals gebruikelijk voor dergelijke toetsen het percentage mortaliteit op een waarschijnlijkheidsschaal (probits) uitgezet tegen de proeftijd op een logaritmische schaal. Indien er geen bijzondere effecten optreden, verwacht men dan voor elke getoetste concentratie van de toxische verbinding een rechte, welke rechten ongeveer evenwijdig zijn met elkaar en voor lagere concentraties naar rechts verschoven liggen (Sprague, 1969). Zoals blijkt uit fig. 2 was dit bij deze toetsen het geval.

Bij de concentraties 12 en 10 $\mu\text{g l}^{-1}$ trad géén sterfte op ten opzichte van de „blanco” gedurende de gehele proeftijd. De sterfte bij de „blanco's” van beide proeven was te verwaarlozen.

In fig. 3 zijn de resultaten van de eerste proef nog

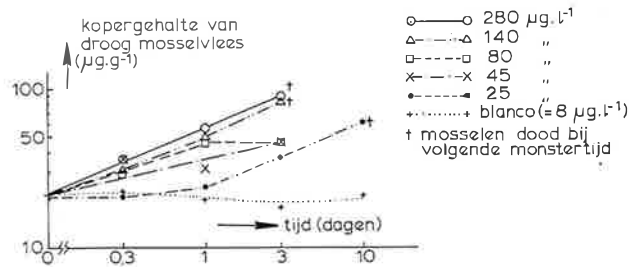


Fig. 4. Accumulatie van koper in mosselen bij verschillende koperconcentraties in het water ($\mu\text{g l}^{-1}$).

Accumulation of copper by mussels from water containing various concentrations of copper ($\mu\text{g l}^{-1}$).

- ↑ copper content of dried soft parts ($\mu\text{g g}^{-1}$)
- time (days)
- + + blank
- + mussels dead before next sampling

op een andere manier weergegeven namelijk als LC_{50} waarden tegen de proefduur. Hieruit kan men aflezen na hoeveel tijd en bij welke concentratie de helft van de proefdieren dood is. LC_{50} waarden worden namelijk in dit gebied van onderzoek ook zeer veel gebruikt. Geliefde proeftijden hierbij zijn 48 of 96 uur. Uit fig. 3 ziet men duidelijk dat voor deze dieren dergelijke proeftijden te kort zijn voor een beoordeling van toxiciteit.

Uit de mortaliteitsgegevens blijkt, dat er bij de eerste proef na 30 dagen geen mosselen meer over waren om de proef voort te zetten ter bepaling van de eventuele koperafgifte. De accumulatiegegevens van de eerste proef zijn weergegeven in fig. 4. De accumulatiegegevens van de tweede proef zijn weergegeven in fig. 5. (Na 0,3 dag werden er bij deze proef géén monsters genomen.) De proef werd met die bakken, welke nog voldoende mosselen bevatten na de eerste proefmaand, vervolgd door de tweede proefmaand waarbij eventuele afgifte van opgenomen koper werd nagegaan. De resultaten hiervan zijn vermeld in fig. 6.

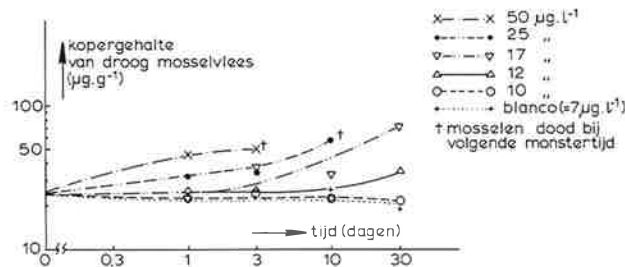


Fig. 5. Accumulatie van koper in mosselen bij verschillende koperconcentraties in het water ($\mu\text{g l}^{-1}$).

Accumulation of copper by mussels from water containing various concentrations of copper ($\mu\text{g l}^{-1}$).

- ↑ copper content of dried soft parts ($\mu\text{g g}^{-1}$)
- time (days)
- + + blank
- + mussels dead before next sampling

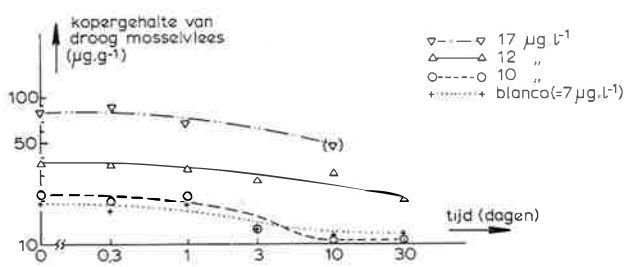


Fig. 6. Verloop van het kopergehalte in mosselen na koperaccumulatie (zie fig. 5) bij doorstromen met schoon zeewater.

Elimination of accumulated copper (see Fig. 5) from mussels transferred to running, clean sea water.

- ↑ Copper content of dried soft parts
- blank + +
- time (days)

4. Diskussie

Binnen de proeftijd van 30 dagen stierven bijna alle mosselen in zeewater met koperconcentraties $\geq 25 \mu\text{g l}^{-1}$ (berekend zoals weergegeven in § 2.2.). Voor de concentraties 25 en $50 \mu\text{g l}^{-1}$ werd dit in de tweede proef bevestigd. De sterfte trad verder, zoals te verwachten is, eerder op naarmate de koperconcentratie in het water hoger was. Bij een concentratie van $17 \mu\text{g l}^{-1}$ begon tegen het einde van de proeftijd juist enige sterfte op te treden, welke zich nog gedurende 5 dagen vanaf het beëindigen van de koperdosering voortzette. Het verloop van dit begin van de sterfte komt overeen met de sterfte bij de andere concentraties (zie fig. 2), zodat het waarschijnlijk is dat de sterfte zich bij verlenging van de proefduur voort zal zetten volgens de in fig. 2 geschetste stippellijn. Of er op den duur enige sterfte op zal treden bij 10 en $12 \mu\text{g l}^{-1}$ is uit deze proef niet af te leiden. Hiervoor zijn langere proeftijden nodig.

De proefduur kan echter niet zonder meer worden verlengd. Een voorwaarde is dat de „blanco” mosselen in goede konditie blijven gedurende de gehele proeftijd, waarbij moet worden bedacht dat de mosselen niet worden gevoerd bij deze proeven. Een eventueel ernstig vermageren van de mosselen tijdens de proef werd echter nagegaan door van elk monster het asvrij drooggewicht te bepalen (voor deze bepaling werd het droge mosselvlies verast bij 600°C). Bij de eerste proef trad, gedurende de 10 dagen proefduur, geen vermagering op van de mosselen. Bij de tweede proef trad binnen 30 dagen al een geringe vermagering op welke aan het eind van de tweede proefmaand aanzienlijk was. Proeftijden > 1 maand zijn dus bij de huidige proefopzet zonder voedsel minder juist.

De accumulatie bij de hogere concentraties in het water verloopt snel (zie fig. 4). Sterfte treedt hier op, bij gehalten in de mosselen van 50 t/m $90 \mu\text{g g}^{-1}$ droog mosselvlies, welke gehalten verkregen zijn afhankelijk van de koperconcentratie in het water.

In beide proeven wordt bij een koperconcentratie van ongeveer $50 \mu\text{g l}^{-1}$ zeewater, in de mosselen een gehalte van ongeveer $50 \mu\text{g g}^{-1}$ droog vlees gevonden bij de laatst mogelijke monstertijd. De resultaten van beide proeven komen dus goed met elkaar overeen. Dit is ook het geval bij de concentratie van $25 \mu\text{g l}^{-1}$, welke eveneens tweemaal werd getoetst. Hier werd in beide gevallen na 10 dagen een gehalte van ongeveer $60 \mu\text{g g}^{-1}$ in de mosselen bereikt.

Ondanks deze overeenkomsten worden alle accumulatiegegevens onder voorbehoud gegeven. Een proeffout van ongeveer $10 \mu\text{g g}^{-1}$ droog vlees hetgeen vooral bij de lagere gehalten procentueel hoog is, kan voorkomen, zoals gebleken is uit herhaalde bepalingen. (Dit is mogelijk te wijten aan inhomogeniteit van de as en/of aan niet volledig

oplossen van de as. De bepaling met de autoanalyzer op zichzelf heeft een veel geringere proeffout, namelijk niet meer dan (omgerekend) $2 \mu\text{g g}^{-1}$ droog vlees). De algemene trend in de resultaten wordt hierdoor echter weinig beïnvloed.

Bij $17 \mu\text{g l}^{-1}$ treedt een langzame accumulatie op, waarbij na 30 dagen het kopergehalte in de mosselen ongeveer $80 \mu\text{g g}^{-1}$ droog vlees is. De indruk bestaat dat er bij doorstromen met schoon zeewater op den duur weer enige afgifte optreedt (zie fig. 6). Voldoende betrouwbare waarnemingen ontbreken hier echter, aangezien de aantallen mosselen per monster te gering werden door de inmiddels optredende sterfte. 10 dagen vanaf het doorstromen met schoon zeewater werd aan een monster van slechts 14 stuks nog het kopergehalte bepaald om enige indruk hiervan te verkrijgen. Dit gehalte bleek toch goed in overeenstemming met de andere resultaten, zodat het in fig. 6 tussen haakjes is weergegeven.

Bij $12 \mu\text{g l}^{-1}$ trad nog een geringe accumulatie op. Deze kan alléén verhoogd ten opzichte van de „blanco” genoemd worden, daar dit op alle monstertijden het geval was. Punt voor punt beschouwd vallen de verhogingen ten opzichte van de „blanco” namelijk binnen de bepalingsfout. Na 30 dagen was hier een gehalte van ongeveer $35 \mu\text{g g}^{-1}$ bereikt, welk gehalte bij doorstromen met schoon zeewater wellicht iets lager wordt.

Bij $10 \mu\text{g l}^{-1}$ werd géén accumulatie gevonden. Gedurende de gehele proeftijd was het kopergehalte van deze mosselen ongeveer gelijk aan dat van de „blanco” mosselen. Het kopergehalte van de „blanco” mosselen wordt op den duur iets lager. Ook deze verlaging valt echter binnen de proeffout. Het kopergehalte van deze mosselen wordt echter in geen geval hoger, terwijl het kopergehalte van het „blanco” zeewater toch $7 \mu\text{g l}^{-1}$ bedroeg.

De gemeten verlaging zou een gevolg kunnen zijn van de optredende vermagering.

De al of niet optredende koperopname in de mosselen is in alle gevallen kwalitatief in overeenstemming met het verschil in het kopergehalte tussen in- en uitstromend water in de proefbakken (zie § 3). Dit verloop in kopergehalte tussen in- en uitstromend water is ongunstig voor nauwkeurige toxiciteits- en accumulatieproeven in dergelijke systemen. Bij vervolg van het onderzoek zal de doorstromingsnelheid worden vergroot om dit effect zoveel mogelijk te beperken.

Literatuur

- Brouwer W. (1970): De automatische bepaling van het gehalte aan koper in water van de Waddenzee met behulp van een AutoAnalyzer.
TNO-Nieuws 25, 297-302.
- Dral A. D. G. (1967): The movements of the latero-frontal
(Slot op bladzijde 487)

Vis-toxicologisch onderzoek met koper

Fish-toxicological investigations with copper

G. J. VINK

Centraal Laboratorium TNO

Samenvatting

In een onderzoek met de guppy, *Lebistes reticulatus*, werden de gevolgen van koperdosering in zee water bestudeerd met betrekking tot factoren als overlevingsduur, groei, koperakkumulatie en -eliminatie. De experimenten werden uitgevoerd met vissen van 2, 30 en 150 dagen oud, welke leeftijdsgroepen gedurende 30 dagen aan verschillende koperconcentraties tot een maximum van $560 \mu\text{g l}^{-1}$ werden blootgesteld.

Op grond van de resultaten met betrekking tot de overlevingsduur en de groei blijken de guppies van 30 dagen oud iets gevoeliger voor koper te zijn dan de guppies van 2 en 150 dagen oud.

Het kopergehalte in de vissen is afhankelijk van de koperconcentratie in het water, van de expositietijd en van de leeftijd van de guppies, en bereikt bij voldoende lange expositietijd waarschijnlijk een evenwichtswaarde. Bij eenzelfde koperconcentratie en expositietijd is de toename van het kopergehalte het grootst bij de guppies van 2 dagen oud. Als de vissen, na 15 dagen te zijn blootgesteld aan een hoge koperconcentratie, worden overgebracht naar water met een lage koperconcentratie, heeft snelle afgifte van geaccumuleerd koper plaats. Een experiment met guppies van 150 dagen oud geeft aanleiding tot de veronderstelling dat de biologische halfwaardetijd voor kopereliminatie ongeveer 10 dagen zal zijn.

Inleiding

Zuiver water komt in de natuur niet voor. Alle natuurlijke wateren bevatten meer of minder grote hoeveelheden opgeloste chemische verbindingen. Vissen en andere waterdieren zijn over het algemeen op natuurlijke hoeveelheden opgeloste en niet opgeloste stoffen ingesteld, waarbij we moeten opmerken dat het water als ecologisch gegeven bepalend is voor de vissoorten die er in kunnen leven; ook zonder beïnvloeding door de mens behoort bij een bepaald water, getypeerd o.a. door temperatuur, zuurstofgehalte, pH en chemische samenstelling, een bepaald type visstand.

Summary

In an investigation on the guppy, *Lebistes reticulatus*, the effects were studied of the addition of copper to sea water, with regard to such factors as survival period, growth rate, copper accumulation and elimination. The fishes used in the experiments were 2, 30 and 150 days old, and each of these age groups was exposed for 30 days to various copper concentrations up to a maximum of $560 \mu\text{g l}^{-1}$.

The results for the survival period and growth rate showed that the 30-day-old guppies are slightly more sensitive to copper than the guppies of 2 or 150 days old.

The copper content of the fishes depends on the copper concentration of the water, on the time of exposure and on the age of the guppies. After a sufficiently long time of exposure it probably reaches an equilibrium value. For the same copper concentration and exposure time, the increase in copper content is greatest with the 2-day-old guppies.

When the fishes, after having been exposed for 15 days to high copper concentrations, are moved to water with a low copper concentration, a rapid elimination of copper takes place. An experiment with 150-day-old guppies indicates that the biological half-life for copper elimination is about 10 days.

Veranderingen in één der hierboven genoemde factoren, die echter niet onafhankelijk van elkaar zijn, kunnen de visstand wijzigen.

Het zijn vooral de veranderingen in de chemische samenstelling van het water en de daarmee samenhangende biologische gevolgen, die in de vis-toxicologie belangrijke punten van onderzoek vormen. De lozing van zware metalen in het aquatisch milieu en de giftigheid van deze verbindingen is, vanaf de intrede van de techniek bij het begin van deze eeuw, aanleiding geweest tot een aanzienlijke hoeveelheid toxicologisch onderzoek, zoals blijkt uit het overzichtsartikel van *Doudoroff en Katz* (1953). De hierin voor koper vermelde grenskon-

(Slot van bladzijde 486)

ilia and the mechanism of particle retention in the Mussel (*Mytilus edulis* L.).

Neth. J. of Sea Res. 3 (3), 391-422.

Kéckés S., B. Ozretic and M. Krajnovia (1969): Metabolism of Zn^{65} in mussels (*Mytilus galloprovincialis* Lam). Uptake of Zn^{65} .

Rapport Comm. Int. Mer. Médit. 19 (5) 949-952.

Mount D. I. and W. A. Brungs (1967): A simplified dosing apparatus for fish toxicology studies.

Water Research 1, 21-29.

Sprague J. B. (1969, 1971): Measurement of pollutant toxicity to fish.

I. Bioassay methods for acute toxicity.

Water Research 3, 793-821.

III. Sublethal effects and „safe” concentrations.

Water Research 5, 245-266.

centraties, die voor vissen nog juist acceptabel zijn, liggen veelal binnen het concentratiegebied 25-1000 $\mu\text{g Cu}\cdot\text{l}^{-1}$.

Deze grote variatie in grenskoncentraties werd veroorzaakt door verschillen in proefmethodieken, het gebruik van verschillende vissoorten, verschillen in proefduur en het gebruik van water van verschillende chemische samenstelling (bijv. hard of zacht water). Al deze factoren hebben invloed op de resultaten van de toxiciteits-toets.

Doudoroff en Katz konkludeerden dat koperconcentraties lager dan 25 $\mu\text{g Cu}\cdot\text{l}^{-1}$ in ieder geval niet acuut fataal zijn voor de meeste vissen.

Echter „the ability to survive is not a reliable indication that the medium is satisfactory” (Doudoroff, 1957).

Het is dan ook belangrijk dat de toxicologische waardebeoordeling van afvalstoffen in water niet alleen gebaseerd is op acute toxiciteits-toetsen, zoals het bepalen van de LC_{50-96} uur¹⁾, maar tevens op subletale verschijnselen bij de proefdieren.

Een kritisch overzicht van de mogelijkheden en moeilijkheden bij onderzoek van zowel acute als chronische vis-toxiciteit is gegeven door Sprague (1969, 1970, 1971).

Mount (1968) en Mount en Stephan (1969) berekenden uit de resultaten van hun 11 maanden durende experimenten met de vis *Pimephales promelas* de „maximum acceptable tolerance concentration” (MATC).²⁾

Voor koper vonden zij dat bij een waterhardheid van 198 $\text{mg}\cdot\text{l}^{-1}$ en 31 $\text{mg}\cdot\text{l}^{-1}$ (als CaCO_3) de MATC resp. lag tussen 15-33 $\mu\text{g Cu}\cdot\text{l}^{-1}$ en 10-18 $\mu\text{g Cu}\cdot\text{l}^{-1}$. Voor de LC_{50-96} uur was voor het harde en het zachte water resp. gevonden 470 en 75 $\mu\text{g Cu}\cdot\text{l}^{-1}$.

McKim en Benoit (1971) voerden een experiment van 22 maanden uit waarin alle ontwikkelingsstadia van *Salvelinus fontinalis* werden betrokken. Zij vonden voor de „no-effect level” (MATC) een waarde tussen 9 en 17 $\mu\text{g Cu}\cdot\text{l}^{-1}$ bij een waterhardheid van 45 $\text{mg}\cdot\text{l}^{-1}$ (als CaCO_3), en voor de LC_{50-96} uur voor 14 maanden oude vissen een waarde van 100 $\mu\text{g Cu}\cdot\text{l}^{-1}$.

Deze concentraties vallen in de range van koperconcentraties die voor het Nederlandse binnenwater zijn gevonden (Brouwer, 1970). Op een aantal plaatsen in Nederland werden zelfs hogere waarden gemeten dan de hier boven genoemde „no-effect levels”.

De koperconcentratie in het noordzeewater is lager dan in het zoete water, ongeveer 1-5 $\mu\text{g Cu}\cdot\text{l}^{-1}$. In het kustwater komen plaatselijk door chronische belasting met afvalwater of gecontamineerd

rivierwater hogere concentraties voor dan in de open zee (Abdullah e.a., 1972; Brouwer, 1970; Preston e.a., 1972).

In ons laboratorium wordt het onderzoek naar de toxiciteit van zware metalen uitgevoerd met verschillende vissoorten en vis-eieren, afkomstig zowel uit het zoete water als het mariene milieu.

Alleen het guppy, *Lebistes reticulatus*, waarvan zowel een kweek in zoet water als in zeewater wordt aangehouden, en het zebra-visje, *Brachydanio rerio*, waarvan de eieren worden gebruikt voor de ontwikkeling van een kort durende toxiciteits-toets, zijn als permanente laboratoriumdieren aanwezig.

Afhankelijk van het jaargetijde worden andere vissen en vis-eieren in het onderzoek betrokken, zoals in het kustwater gevangen jonge schol, en eieren van commercieel belangrijke vissen als kabeljauw, schol en forel. Deze vis-eieren worden verkregen via het RIVO (Rijksinstituut voor visserijonderzoek, te IJmuiden) en de forelkwekerij te Vaassen.

Daar het van belang lijkt onderscheid te maken tussen de werking van een metaalzout opgenomen vanuit het water via de kieuwen van een vis of opgenomen via de orale weg met het voedseldier, wordt onderzoek verricht over het kopertransport in de voedselketen daphnia \rightarrow guppy. Op de voorlopige resultaten van het onderzoek met vis-eieren en over het kopertransport in de voedselketen zal hier niet worden ingegaan. In het artikel „Koper in Vis” worden kopergehalten vermeld van langs de Nederlandse kust gevangen jonge schol.

Een belangrijk punt in vis-toxicologisch onderzoek heeft, blijkens de literatuur, tot nu toe betrekkelijk weinig de aandacht gekregen, namelijk de accumulatie van zware metalen in vis als gevolg van verhoogde doses metaalzout in het water.

Wel verschijnen regelmatig publikaties met analysesresultaten van zware metaalgehalten van in natuurlijke wateren gevangen vis.

Het onderzoek in onze werkgroep richt zich thans in belangrijke mate op accumulatieverschijnselen van het metaal in de proefdieren. Zo mogelijk worden de proefdieren na een bepaalde periode van accumulatie weer blootgesteld aan „blanco” water, zonder toevoeging van het metaalzout, om het eventuele verdwijnen (eliminatie) van het metaal uit het proefdier te kunnen volgen. Dit laatste biedt de mogelijkheid tot het bepalen van de biologische half-waarde tijd, de tijd die nodig is om de helft van de geaccumuleerde hoeveelheid metaal weer uit te scheiden.

In dit artikel wordt nu nader ingegaan op een onderzoek dat werd uitgevoerd met de guppy, *Lebistes reticulatus*, en waarin de invloed van kopertoevoegingen aan water werd nagegaan op de

¹⁾ De LC_{50-96} uur is die concentratie van een toxische verbinding in water waarbij 50% van de proefdieren in 96 uur dood gaat.

²⁾ De MATC is bij definitie de hoogste concentratie die geen effect heeft op overleving, groei en reproductie.

guppy, met betrekking tot factoren als overlevingsduur, groei, koper-akkumulatie en -eliminatie en deze factoren in relatie tot de leeftijd van de guppies.

Methoden

De proefdieren werden verkregen uit de bestaande laboratoriumkweek van guppies in synthetisch zeewater (H. Wiegandt zeezout, opgelost in gedestilleerd water) waaraan een aantal oudere dieren een jaar tevoren waren gewend. De guppy is een kleine, tropische, ovi-vivipare cyprinodont, die zich ook in zeewater voortplant; het visje is weinig gevoelig voor temperatuurverschillen en andere ongunstige kweekomstandigheden. Pas geboren jonge guppies werden zo spoedig mogelijk gescheiden van de moeder; worpen van één dag werden bij elkaar gevoegd en gescheiden opgekweekt van worpen op andere dagen, zodat de leeftijd van iedere groep vissen bekend was.

Het experimentele deel werd uitgevoerd met guppies van drie leeftijden, namelijk $2 \pm 1/2$, 30 ± 2 en 150 ± 5 dagen.

De vissen werden per leeftijdsgroep verdeeld over een aantal aquaria met ieder 1,5 liter zeewater, dat continu gaageerd werd, en waaraan $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ van een stamoplossing was toegevoegd tot een berekende eindconcentratie van 0, 100, 180, 240, 320 en $560 \mu\text{g Cu l}^{-1}$. De proeven zijn in duplo uitgevoerd. Om de andere dag werden de guppies overgebracht in schone aquaria met vers zeewater en bijbehorende koperconcentratie. Twee maal per dag werden guppies gevoerd met enige overmaat „Tetramin”, dat een ruw eiwitgehalte heeft van 50% en een kopergehalte van $23 \mu\text{g g}^{-1}$.

Om uitdrukking te geven aan de faktor sterfte werd het geometrisch gemiddelde berekend van de overlevingsperiode van de guppies in ieder aquarium, volgens $T = \text{antilog} \frac{\sum \log t}{N}$, waarin $t =$ overlevingsperiode van ieder guppy in dagen en N het aantal gebruikte vissen per concentratie, in dit geval acht.

Eénmaal per week werd het natgewicht van de

overlevende guppies in ieder aquarium bepaald. Na een proefduur van 30 dagen werd het restant levende guppies geanalyseerd op koper volgens de emissie-spektrochemische methode (Haupt, p. 452). Het verloop van de koperconcentratie in het water werd gevolgd met auto-analyzer apparatuur volgens een colorimetrische methode (Brouwer, 1970).

In een ander experiment werd de koperakkumulatie in de tijd gevolgd met guppies van 150 dagen oud bij $350 \mu\text{g Cu l}^{-1}$. Hiertoe werden 50 vissen in een 10 liter aquarium overgebracht, waarvan het zeewater om de twee dagen werd verversd en koper opnieuw gedoseerd. Op verschillende tijdstippen werden 4 vissen (2 mannen en 2 vrouwen) uit het aquarium genomen voor een koperanalyse van de totale vis. Na 15 dagen werden de resterende vissen overgebracht in water met een lage koperconcentratie ($25 \mu\text{g Cu l}^{-1}$) om de uitscheiding van koper uit de vissen te volgen.

Resultaten en discussie

Fysische en chemische omstandigheden

Door het regelmatig verversen van het zeewater konden de pH en het soortelijk gewicht van het water binnen nauwe grenzen worden gehouden, resp. $8,0 \pm 0,2$ en $1,024 \pm 0,001$. Als gevolg van het feit dat de experimenten bij kamertemperatuur en niet gelijktijdig werden uitgevoerd, maar in een periode van zes maanden, van januari tot juli 1970, was de gemiddelde temperatuur van het eerste experiment lager dan van het laatste, resp. met guppies van 30 dagen oud: $21,5 \pm 2,5^\circ\text{C}$, met guppies van 150 dagen oud: $22,5 \pm 1^\circ\text{C}$, en met guppies van 2 dagen oud: $24 \pm 2^\circ\text{C}$.

Tabel 1 geeft een overzicht van de resultaten van de koperanalyses van de afzonderlijke aquaria

Tabel 1. Gemiddelde koperconcentraties en minimum en maximum waarde over de proefperiode van 30 dagen in experimenten met *Lebistes reticulatus*, resp. van 2, 30 en 150 dagen oud bij de aanvang van de proeven.

Mean, minimum and maximum copper concentrations found in 30-day experiments with *Lebistes reticulatus* of initial ages of 2, 30 and 150 days.

Tabel 1.

toegevoegd koper ($\mu\text{g.l}^{-1}$)	gemeten koperconcentraties ($\mu\text{g.l}^{-1}$) in de experimenten met guppies van 3 leeftijden								
	2 dagen			30 dagen			150 dagen		
	gem.	min.	max.	gem.	min.	max.	gem.	min.	max.
0	20	15	32	27	19	39	23	12	38
100	127	107	145	134	100	190	120	85	165
180	208	178	245	213	170	250	196	162	245
240	263	225	305	265	220	320	254	220	305
320	350	280	400	334	275	400	327	270	400
560	574	530	620	555	410	590	543	490	600

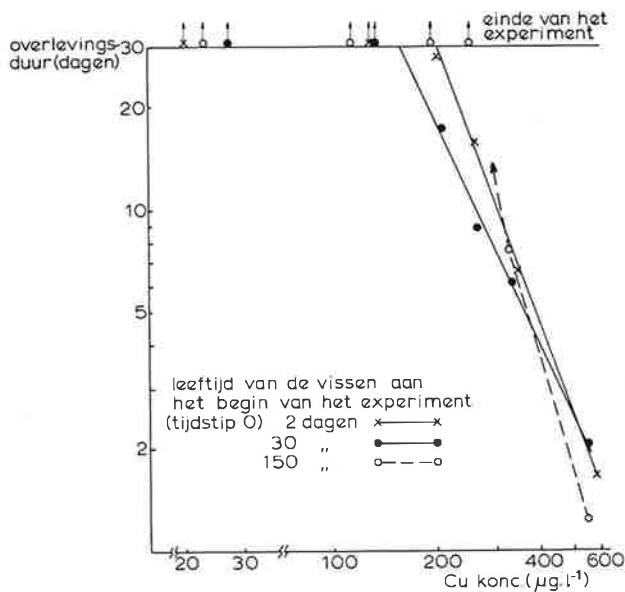


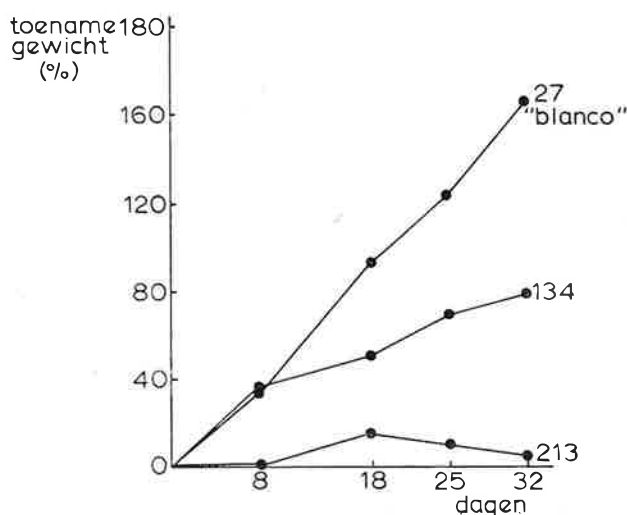
Fig. 1. Effekt van koper op de gemiddelde overlevingsduur van *Lebistes reticulatus*.

Effect of copper on the average survival time of *Lebistes reticulatus*. At the beginning of the experiment the fishes were 2, 30 and 150 days old.

Fig. 2. Gewichtstoename, als percentage van het initiële natgewicht bij *Lebistes reticulatus* onder invloed van verschillende koperconcentraties in zee water. Leeftijd van de vissen op tijdstip nul: 30 dagen. Gemiddelde koperconcentraties aangeduid aan het einde van de kurven ($\mu\text{g.l}^{-1}$).

Weight increase, as a percentage of initial wet weight, of *Lebistes reticulatus* as a function of various copper concentrations in sea water. Age of the fishes at zero time: 30 days.

The mean copper concentrations are indicated at the end of the curves ($\mu\text{g.l}^{-1}$).



over de proefperiode van 30 dagen. Door de aanwezigheid van gemiddeld 20-27 $\mu\text{g Cu l}^{-1}$ in de aquaria waarin geen koper werd gedoseerd zijn de gemeten koperconcentraties in de andere aquaria gemiddeld globaal eenzelfde bedrag hoger, dan toegevoegd werd.

Overlevingsperiode

Fig. 1 geeft de gemiddelde overlevingsperiode weer voor de guppies onder invloed van de verschillende koperconcentraties.

De lijnen voor de guppies van 2 en 30 dagen snijden de „30 dagen lijn” (einde van het experiment) bij resp. 210 en 160 $\mu\text{g Cu l}^{-1}$.

Voor de guppies van 150 dagen kon geen snijpunt met de „30 dagen lijn” worden vastgesteld; dit snijpunt ligt waarschijnlijk iets boven 250 $\mu\text{g Cu l}^{-1}$. Uit het verloop van de lijnen blijkt dat er een klein verschil in gevoeligheid is voor koper tussen de drie leeftijdsgroepen. Guppies van 30 dagen zijn iets gevoeliger dan de guppies van 2 en 150 dagen, en guppies van 2 dagen zijn weer iets gevoeliger dan de guppies van 150 dagen. Indien de proefduur maar lang genoeg is, gaan de lijnen parallel lopen aan de tijd-as, bij een waarde op de concentratie-as die met letaliteitsgrens wordt aangeduid. Uit de figuur blijkt dat deze drempelwaarde voor de twee jongste leeftijden in ieder geval niet bereikt is, d.w.z. dat bij langere proefduur nog sterfte zou zijn opgetreden.

Groei

De gemiddelde gewichtstoename van de guppies bij de verschillende koperconcentraties in het water is weergegeven in fig. 2 en fig. 3, resp. voor de guppies van 30 en 150 dagen.

Uit fig. 2 blijkt dat bij 134 $\mu\text{g Cu l}^{-1}$, verkregen door toevoeging van 100 $\mu\text{g Cu l}^{-1}$, de groei ongeveer 50% achterblijft bij die van de controleguppies. Bij een dosering van 180 $\mu\text{g Cu l}^{-1}$, resulterend in 213 $\mu\text{g Cu l}^{-1}$, heeft vrijwel geen groei meer plaats.

Toegevoegd koper ($\mu\text{g.l}^{-1}$)	Gewichtstoename (%)
0	163
100	156
160	150
240	44
320	28

Tabel 2. Gewichtstoename, als percentage van het initiële natgewicht, bij *Lebistes reticulatus* onder invloed van verschillende koperconcentraties in zee water na een proefduur van 30 dagen. Leeftijd van de vissen op tijdstip nul: 2 dagen.

Increase in weight after 30 days as a percentage of initial wet weight of *Lebistes reticulatus* living in sea water containing various concentrations of copper. At the beginning of the experiment the fishes were two days old.

Bij de vissen van 150 dagen oud (fig. 3) treedt een vrijwel volledige remming van de groei pas op bij toevoeging van $320 \mu\text{g Cu l}^{-1}$, terwijl de groei bij lagere concentraties globaal gelijk is aan die van de controleguppies.

De guppies van 2 dagen oud werden alleen gewogen aan begin en einde van het experiment. Tabel 2 toont de gewichtstoename voor deze vissen, waaruit blijkt dat sterke vertraging in de groei optreedt bij een dosering van $240 \mu\text{g Cu l}^{-1}$.

De verschillen in gevoeligheid voor koper tussen de drie leeftijden, zoals die gevonden zijn met betrekking tot de overlevingsduur, handhaven zich ook met betrekking tot de groei.

Bovendien blijkt dat groeivertraging kan optreden bij subletale concentraties, waarmee de factor groei dus een gevoeliger criterium is dan de factor sterfte.

Koperakkumulatie en -eliminatie

De gemiddelde kopergehalten van de guppies welke werden bereikt na een proefperiode van 30 dagen bij de verschillende koperconcentraties in het zeewater zijn weergegeven in fig. 4.

Hieruit blijkt dat er een relatie bestaat tussen de koperconcentratie in het water en het kopergehalte in de vissen. Verder is de accumulatie duidelijk verschillend voor de drie leeftijden. Bij bijv. $200 \mu\text{g Cu l}^{-1}$ zeewater accumuleren de guppies van 2, 30 en 150 dagen per gram vis resp. ongeveer drie-, twee- en eenmaal het kopergehalte van de resp. controlevissen (bij $20\text{-}30 \mu\text{g Cu l}^{-1}$). Bij dezelfde concentratie accumuleren de vissen van 2 en 30 dagen resp. bijna vijf- en tweemaal zoveel per gram vis als de vissen van 150 dagen.

Fig. 5 toont de accumulatie van koper gedurende 15 dagen bij guppies, die bij het begin van de proef 150 dagen oud waren, bij gemiddeld $350 \mu\text{g Cu l}^{-1}$ zeewater.

Er vindt (kurve a) een toename plaats van het kopergehalte in de vissen tot bijna driemaal de waarde bij het begin van de proef.

Overplaatsing van de guppies na 15 dagen in „blanco” zeewater met gemiddeld $25 \mu\text{g Cu l}^{-1}$ heeft direkt uitscheiding van koper tot gevolg, hetgeen resulteert in een afnemend kopergehalte van de vissen. De koperconcentratie in het milieu wordt daardoor hoger, maar omdat om de twee dagen het zeewater werd verversed en de koperconcentratie daardoor laag bleef, kon een vrijwel continue afgifte van koper door de vissen plaats vinden. Zowel bij de opname als de afgifte van koper blijkt er een grote spreiding te zijn in het kopergehalte, zoals de figuur laat zien. Na overplaatsen van de guppies in water met de lage koperconcentratie trad geen sterfte meer op.

Bovendien is te zien dat het experiment niet lang genoeg heeft geduurd om definitieve konklusies te trekken met betrekking tot de kopereliminatie. In

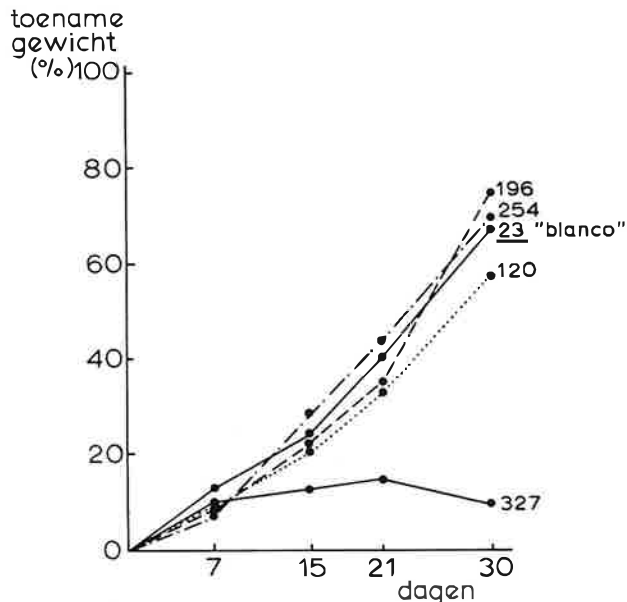


Fig. 3. Idem (als in fig. 2).

Leeftijd van de vissen op tijdstip nul: 150 dagen.

Item (as in fig. 2).

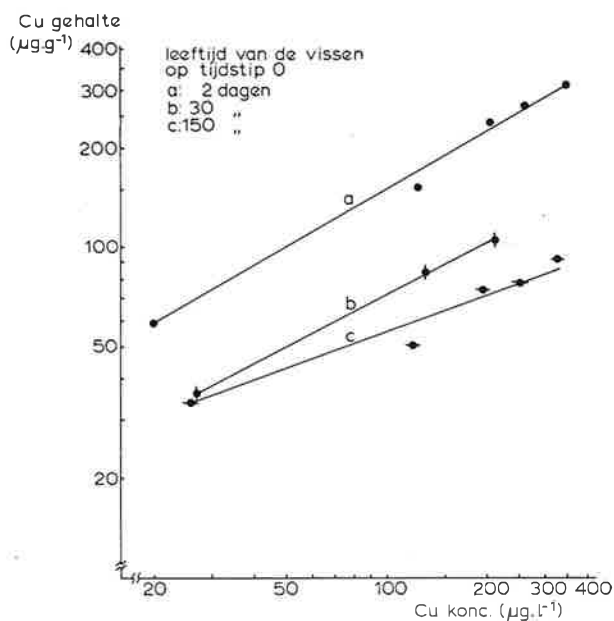
Age of the fishes at zero time: 150 days.

Fig. 4. Kopergehalten van *Lebistes reticulatus* bij verschillende koperconcentraties in zeewater ($\mu\text{g.l}^{-1}$) na een proefduur van 30 dagen.

Kopergehalten ($\mu\text{g.g.}^{-1}$) zijn gebaseerd op droog gewicht hele vis.

Copper contents of *Lebistes reticulatus* at various copper concentrations in sea water ($\mu\text{g.l}^{-1}$) after a test period of 30 days. The copper contents ($\mu\text{g.g.}^{-1}$) are based on the dry weight of the whole fish.

Age of the fishes at zero time: 2, 30 and 150 days, represented in the figure by curves a, b and c, respectively.



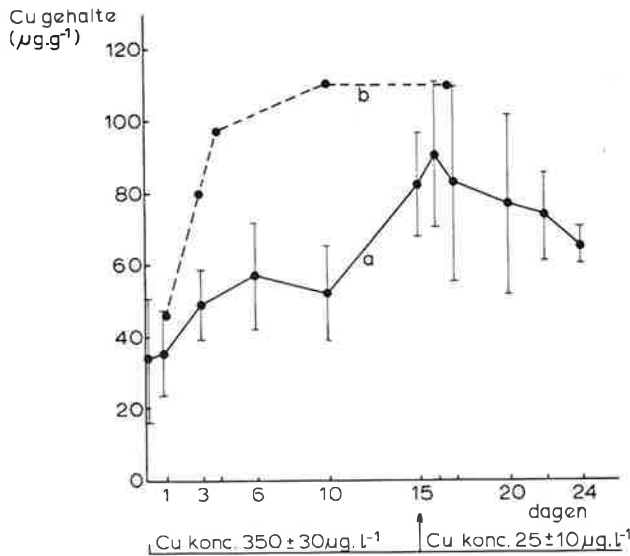


Fig. 5. Koperakkumulatie en -eliminatie bij *Lebistes reticulatus*. Leeftijd van de vissen op tijdstip nul: 150 dagen.

Kopergehalten ($\mu\text{g.g}^{-1}$) zijn gebaseerd op droog gewicht hele vis.

Kurve a: accumulatie gedurende 15 dagen bij $350 \pm 30 \mu\text{gCu.l}^{-1}$ zeewater; daarna eliminatie van koper na overplaatsing van de vissen in zeewater met $25 \pm 10 \mu\text{gCu.l}^{-1}$.

Tevens is weergegeven het 95% betrouwbaarheidsgebied van de gemiddelde waarnemingen

Kurve b: kopergehalten van tijdens het experiment gestorven vissen.

Copper accumulation and elimination by *Lebistes reticulatus*. Age of the fishes at zero time: 150 days. The copper contents ($\mu\text{g.g}^{-1}$) are based on the dry weight of the whole fish.

Curve a: accumulation during 15 days at a concentration of $350 \pm 30 \mu\text{gCu.l}^{-1}$ in sea water, and subsequent elimination after placing the fishes in sea water containing $25 \pm 10 \mu\text{gCu.l}^{-1}$. The 95% confidence limits of the average results are also indicated

Curve b: Copper contents of fishes that died during the experiment.

fig. 4 is het kopergehalte bij de guppies van 150 dagen na een proefduur van 30 dagen bij gemiddeld $350 \mu\text{g Cu l}^{-1}$ zeewater op het niveau van $90 \mu\text{g Cu g}^{-1}$ vis; uit fig. 5 blijkt ditzelfde niveau reeds na 15 dagen bereikt te zijn. Dit gegeven zou er op kunnen duiden dat de accumulatie van koper doorgaat tot een bepaald niveau is bereikt, waarbij de hoogte van dit niveau afhankelijk is van de koperconcentratie in het milieu. Het lijkt er dan ook op dat zowel het accumulatie- als het

eliminatieproces in dit geval een halfwaardetijd heeft van ongeveer 10 dagen.

In fig. 5 zijn tevens enkele kopergehalten weergegeven van guppies die tijdens het experiment zijn doodgegaan (kurve b).

De accumulatie van koper verloopt bij deze vissen sneller dan bij de vissen van kurve a. Na enkele dagen hebben deze vissen reeds kopergehalten bereikt die hoger zijn dan het hoogste gemiddelde niveau van de vissen van kurve a.

De beschreven experimenten vormen een eerste aanzet tot onderzoek over accumulatie- en eliminatieverschijnselen van koper en andere zware metalen bij vissen. De resultaten geven aanleiding tot enkele voorlopige konklusies, die in voortgezet onderzoek op hun waarde zullen worden getoetst.

Literatuur

- Abdullah, M. I., L. G. Royle en A. W. Morris (1972): Heavy metal concentration in coastal waters. *Nature*, 235, 158-160.
- Brouwer, W. (1970): De automatische bepaling van het gehalte aan koper in water van de Waddenzee, met behulp van een auto-analyzer. *TNO-Nieuws*, 25, 297-302.
- Doudoroff, P. (1957): In: *The physiology of fishes*. M. E. Brown (Ed.). Academic Press, New York.
- Doudoroff, P. and M. Katz (1953): Critical review of literature on the toxicity of industrial wastes and their components to fish. II. The metals, as salts. *Sew. and Ind. Wastes* 25, 802-839.
- McKim, J. M. and D. A. Benoit (1971): Effects of long-term exposures to copper on survival, growth and reproduction of brook trout (*Salvelines fontinalis*). *J. Fish. Res. Bd. Canada* 28, 655-662.
- Mount, D. I. (1968): Chronic toxicity of copper to fathead minnows (*Pimephales promelas*, Rafinesque). *Wat. Res. Pergamon Press*, 2, 215-223.
- Mount, D. I. and Ch. E. Stephan (1969): Chronic toxicity of copper to the fathead minnow (*Pimephales promelas*) in soft water. *J. Fish. Res. Bd. Canada*, 26, 2449-2457.
- Preston, A., D. F. Jefferies, J. W. R. Dutton, B. R. Harvey and A. K. Steele (1972): British isles coastal waters: the concentrations of selected heavy metals in sea water, suspended matter and biological indicators - a pilot survey. *Environ. Pollut.*, 3, 69-82.
- Sprague, J. B. (1969): Measurement of pollutant toxicity to fish. I. Bioassay methods for acute toxicity. *Wat. Res. Pergamon Press*, 3, 793-821.
- Sprague, J. B. (1970): Idem. II. Utilizing and applying bioassay results. *Wat. Res. Pergamon Press*, 4, 3-32.
- Sprague, J. B. (1971): Idem. III. Sublethal effects and „safe“ concentrations. *Wat. Res. Pergamon Press*, 5, 245-266.

Koper in vis

G. J. VINK

Centraal Laboratorium TNO

Copper in fish

Samenvatting

In spierweefsel van jonge schol, verzameld op verschillende plaatsen langs de Nederlandse kust, werd het kopergehalte bepaald. De gehalten variëren van 1,3 - 6,7 mg Cu kg⁻¹ droog gewicht en komen overeen met kopergehalten die door andere onderzoekers op andere plaatsen zijn gevonden. Er is een zwakke indicatie dat er een relatie bestaat tussen enerzijds het metaalgehalte en anderzijds de vangplaats, de leeftijd en de conditiefactor van de vissen. Het onderzoek zal worden voortgezet met een uitgebreidere bemonstering van de kuststrook.

Inleiding

Slechts een gering percentage, ongeveer één gewichtsprocent, van alle thans door de wereldbevolking gebruikte voeding is afkomstig uit oceanen en zeeën; omdat vis rijk is aan eiwit correspondeert dit percentage met ruim 10% van de totale consumptie aan dierlijk eiwit (Russell-Hunter, 1970). Een toenemend gebruik van hetgeen het aquatisch milieu voortbrengt wordt in de toekomst noodzakelijk geacht om de mens van voldoende, eiwitrijk voedsel te voorzien (Aubert, 1969).

Kuhnu (1962) wijst er op dat vis, door opname van anorganische zouten uit het water, behalve als eiwitbron, ook van betekenis is als bron van minerale elementen, die een functie in de stofwisseling vervullen, zoals b.v. natrium, kalium, magnesium en ijzer.

Ook een aantal spore-elementen, zoals koper en zink, zijn onmisbaar in de voeding, terwijl voor andere elementen als cadmium, lood en kwik een fysiologische functie onwaarschijnlijk is (Bowen, 1966).

Het milieu wordt in toenemende mate belast met deze spore-elementen die door hun giftigheid daarom sterk in de belangstelling van de milieuen humane toxicologie zijn komen te staan.

Vrijwel alle elementen, ook de niet bio-functionele, zijn aangetroffen in vis (Vinogradov, 1953) en ander biologisch materiaal (Bowen, 1966). In dit artikel wordt alleen aandacht besteed aan kopergehalten in vis. Vinogradov (1953) vermeldt voor zeevis kopergehalten tot 15 mg kg⁻¹. Over het alge-

Summary

Levels of copper in muscle from young plaice, caught in Dutch coastal waters at different sites, have been measured. The concentrations of copper range from 1,3 - 6,7 mg kg⁻¹, based on dry weight, and are similar to the concentrations found by other workers in other places.

There is some indication, that there is a relation between, on the one hand, metal content, and on the other, the sites at which the fishes were caught, their age and condition factor.

This investigation will be continued by more extensive sampling of Dutch coastal areas.

meen zijn meer recente gegevens daarmee in overeenstemming; hogere waarden zijn niet dikwijls aangetroffen.

Viswanathan e.a. (1967) vonden in spierweefsel van verschillende zoetwater vissoorten in India (o.a. *Tilapia mossambica*) kopergehalten van 0,2 - 2,4 mg kg⁻¹ (nat gewicht).

In verschillende vissen, afkomstig uit drie van de Canadese Great Lakes werden gehalten gemeten van 0,8 - 2,7 mg kg⁻¹ (nat gewicht, totale vis), met een gemiddelde van 1,3 (Lucas en Edgington, 1970). Vislever bevatte 1,5 - 28,0 mg Cu kg⁻¹, gemiddeld 9. De variatie in de gehalten tussen de vissoorten was gering, terwijl ook de verschillende vangplaatsen weinig variatie te zien gaven. Uthe en Bligh (1971) bepaalden eveneens koper in verschillende vissoorten van Canadese meren. Zij vonden voor totale vis gehalten variërende van 0,50 - 1,28 mg Cu kg⁻¹ (nat gewicht), met een gemiddelde van 0,8, en constateerden geen significante verschillen tussen industrieel vervuilde en niet vervuilde gebieden.

Hagel (1972) vermeldt voor koper in vis de range 0,1 - 5 mg kg⁻¹. Enige nog niet gepubliceerde gegevens van koper in vis, afkomstig uit de Nederlandse binnenwateren en het Engelse kustwater, wijken niet af van bovengenoemde gehalten. Uit de gegevens blijkt dat het kopergehalte in totale vis of het eetbare gedeelte binnen nauwe grenzen schommelt rond 1 mg kg⁻¹ (nat gewicht). Onze eigen metingen hebben betrekking op jonge platvissen, voornamelijk schol. Gedurende de eerste

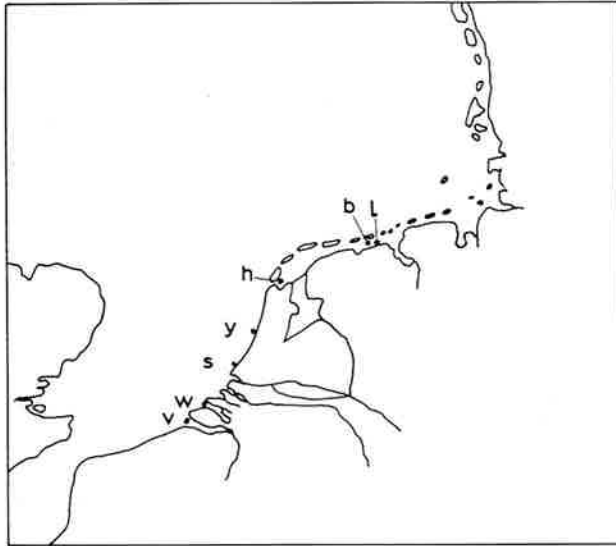


Fig. 1. Vangplaatsen van jonge platvis in het Nederlandse kustwater in het najaar van 1971.

v - Vlissingen
 w - Westerschouwen
 s - Scheveningen
 y - Ijmuiden
 h - Den Helder
 b - Boschgat
 l - Zuid-Oost Lauwers

Catching sites of young flatfish in Dutch coastal waters in the autumn of 1971.

twee levensjaren van schol en andere platvissen vormen het ondiepe open kustwater, de open zee-armen in Zeeland en de Waddenzee de voedselgronden voor deze vissen. Het grootste deel van de jonge schol wordt aangetroffen in de Waddenzee (74%), terwijl het open kustwater en de Zeeuwse wateren respectievelijk 23 en 3% voor hun rekening nemen (Zijlstra 1971; De Veer 1972).

Daar deze randgebieden van de Noordzee het eerst blootstaan aan verontreiniging (zie b.v. Hagel, 1972) en tevens de functie van „kinderkamer” vervullen voor jonge platvis, is het de bedoeling de tolerantie van jonge schol voor verschillende zware metalen in experimenteel toxicologisch onderzoek in het laboratorium te toetsen, waarbij speciaal aandacht gegeven zal worden aan accumulatie- en eliminatieverschijnselen van het te testen metaalzout.

Om een indruk te krijgen van de natuurlijke metaalgehalten in jonge platvis werden in het najaar van 1971 verschillende plaatsen langs de Nederlandse kust bemonsterd.

Methoden

Jonge platvis werd bij laag water aan het strand van Vlissingen, Westerschouwen, Scheveningen en Ijmuiden verzameld, waarbij wij gebruik maakten van een met de hand geslept garnalennetje. Platvis uit het westelijke Waddengebied, omgeving Den Helder, werd verkregen door medewerking

Tabel. Kopergehalten, op basis van het drooggewicht, van de 0- en 1-jaar klasse schol (*Pleuronectes platessa*), gevangen in het Nederlandse kustwater.

Copper levels (based on dry weight) in muscle from 0- and 1-year class plaice (*Pleuronectes platessa*) caught in Dutch coastal waters.

vangplaats	datum	lengte cm (gem.)	gewicht g (gem.)	gewicht lengte ³ · 100	aantal vissen/analyse	drooggewicht natgewicht (%)	asgewicht drooggewicht (%)	kopergehalte mg kg ⁻¹ drooggewicht
Vlissingen (v)	27-10-71	12,2	17,3	0,95	2	21,6	9,5	2,7
„		8,7	6,7	1,01	3	21,5	7,7	2,0
Westerschouwen (w) „	27-10-71	10,7	12,1	0,99	2	20,3	8,2	1,5
„		8,0	4,7	0,92	2	22,7	12,2	3,3
Scheveningen (s)	15-10-71	8,6	5,8	0,90	5	20,1	8,4	6,7
„		9,9	8,7	0,89	5	19,9	9,0	3,2
West-Wadden (h)	1-11-71	19,4	75,4	1,03	4	21,0	8,7	2,0
„		16,6	48,4	1,05	4	20,1	8,0	1,4
„		12,8	19,8	0,94	3	22,1	8,3	1,8
Oost-Wadden (b) (Boschgat)	12-11-71	13,6	22,8	0,91	4	20,5	8,3	1,3
„		10,2	9,1	0,85	6	19,9	8,0	2,2
„		8,7	5,2	0,79	5	20,2	8,1	4,1
Oost-Wadden (l) (Z-O Lauwers)	12-11-71	10,1	9,3	0,90	4	19,5	7,7	4,3
„		8,4	5,4	0,91	5	20,2	7,5	2,7
„		6,4	2,1	0,80	12	22,3	8,6	5,0

van het NIOZ (Nederlands Instituut voor Onderzoek der Zee, Texel) en uit het oostelijke Waddengebied (omgeving uitmonding vuilpersleiding van Hoogkerk) door medewerking van Drs. K. Essink (Zoölogisch Lab. RU, Groningen), waar respectievelijk gevist werd met een fuik en een boomtrawl. De vangplaatsen zijn aangeduid in fig. 1. In de oostelijke Waddenzee liggen de vangplaatsen bij Boschgat en zuid-oost Lauwers, respectievelijk ± 6 km en ± 1 km ten noorden van de uitmonding van de persleiding.

In het laboratorium werd na individuele weging, lengtemeting en verwijdering van de huid het spierweefsel van zoveel mogelijk exemplaren van gelijke grootte, per vissoort en per monsterplaats, samengevoegd tot mengmonsters. De monsters werden bij 90°C gedroogd tot constant gewicht en verast met een Low Temperature Asher (Tracerlab LTA 600) bij maximaal 60°C . Na oplossen van de as in 0,1 N HCl werd het kopergehalte bepaald volgens een kolorimetrische methode (Brouwer, 1970).

Resultaten en discussie

Daar schol op alle plaatsen, met uitzondering van IJmuiden, en tevens in de grootste aantallen werd gevangen, wordt hier alleen op de analyseresultaten voor deze vis ingegaan.

De tabel geeft naast gegevens over lengte en gewicht en de daaruit berekende conditiefactor ($\frac{\text{gewicht (g)}}{\text{lengte (cm)}^3} \cdot 100$) een overzicht van de kopergehalten voor de mengmonsters spierweefsel. De gehalten variëren van 1,3 - 6,7 mg Cu kg⁻¹, berekend op droog gewicht. De verhouding droog-/nat gewicht is globaal een vijfde, zodat het gehalte, berekend op nat gewicht, valt binnen de grenzen 0,2 - 1,4 mg Cu kg⁻¹. De variatie in de gehalten blijkt hiermee gering te zijn en wijkt niet af van de in de inleiding vermelde gehalten van andere onderzoekers. De gehalten moeten waarschijnlijk als natuurlijk worden beschouwd. Gering verhoogde waarden komen volgens de tabel voor bij Scheveningen en zuid-oost Lauwers. Of er inderdaad een relatie bestaat tussen kopergehalte en vangplaats zal nader onderzocht moeten worden. Hierbij is het van belang ook de koperconcentratie in het kustwater op de verschillende vangplaatsen te bepalen.

Figuur 2, waarin de gemeten kopergehalten zijn uitgezet tegen de lengte van de vissen, geeft een zwakke relatie te zien tussen gehalte en lengte en daarmee met de leeftijd van de vissen. Gemiddeld is het kopergehalte van de 0-jaar klasse schol (lengte van de vissen < 10 cm) 1,8 maal hoger dan het gehalte van de 1-jaar klasse (lengte 10-20 cm). Een zelfde beeld als in figuur 2 ontstaat, wanneer het kopergehalte tegen het gewicht wordt uitgezet. Ook de conditiefactor, die een maat is voor de voe-

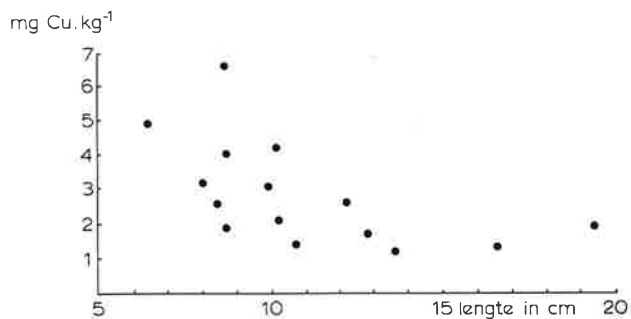


Fig. 2. Relatie tussen kopergehalte in spierweefsel van de 0- en 1-jaar klasse schol (*Pleuronectes platessa*) en de lengte van de vissen.

Relation between copper content in muscle from 0- and 1-year class plaice (*Pleuronectes platessa*) and the length of the fishes.

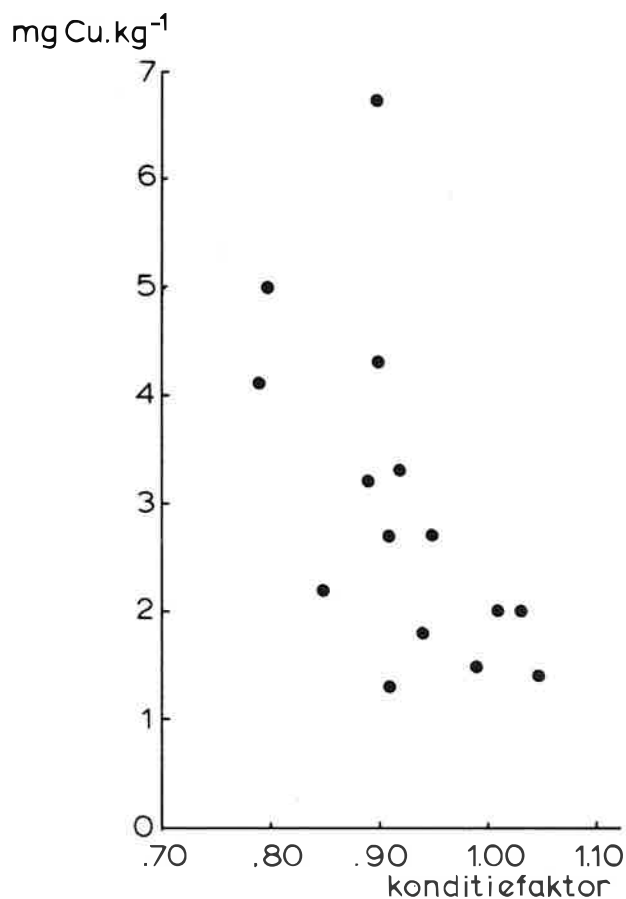


Fig. 3. Relatie tussen kopergehalte in spierweefsel van de 0- en 1-jaar klasse schol (*Pleuronectes platessa*) en de conditiefactor van de vissen.

Relation between copper content in muscle from 0- and 1-year class plaice (*Pleuronectes platessa*) and condition factor.

dingstoestand van de vis, laat een zwak verband zien met het kopergehalte (fig. 3). Deze factor is normaal ongeveer één (Brown, 1957); waarden vanaf 0,70 en hoger worden echter in visserij-biologisch onderzoek nog als normaal beschouwd, zodat van geen der gevangen schollen gesproken kan worden van een slechte conditie.

Voor toxicologisch onderzoek met jonge schol in het laboratorium blijkt het vooralsnog geen verschil te maken waar de vissen gevangen worden. Eventuele relaties tussen metaalgehalte en vangplaats, leeftijd en conditiefactor van de vissen zullen door een meer uitgebreide bemonstering van de kuststrook nader worden onderzocht.

Literatuur

- Aubert, M. (1969). Voedselwinning uit de zee. Aula boek 417. Het Spectrum NV, Utrecht.
- Bowen, H. J. M. (1966). Trace elements in biochemistry. Acad. Press. Inc. (London) Ltd.
- Brouwer, W. (1970). De automatische bepaling van het gehalte aan koper in water van de Waddenzee, met behulp van een auto-analyzer. TNO-Nieuws, 25, 297-302.
- Brown, M. E. (1957). The Physiology of fishes. Vol. I. Acad. Press. Inc., New York.
- Hagel, P. (1972). 25 jaar zeevervuiling. Visserij, 25 (3), 207-215.
- Kuhnau, J. (1962) Fish in nutrition, 298-300 (E. Heen and R. Kreuzer, eds.). Fishing News (Books) Ltd., London.
- Lucas, H. F. en D. N. Edgington (1970). Concentrations of trace elements in Great Lakes fishes. J. Fish. Res. Bd. Canada, 27, 677-684.
- Russell-Hunter, W. D. (1970). Aquatic productivity: an introduction to some basic aspects of biological oceanography and limnology. The Macmillan Company, New York.
- Uthe, J. F. en E. G. Bligh (1971). Preliminary survey of heavy metal contamination of Canadian freshwater fish. J. Fish. Res. Bd. Canada, 28, 786-788.
- Veen, J. F. de (1972). Het Nederlandse platvisonderzoek in de afgelopen vijftientig jaar. Visserij, 25 (3), 171-178.
- Vinogradov, A. P. (1953). The elementary chemical composition of marine organisms. Sears Foundation for Marine Research. New Haven :Yale University Press, Connecticut.
- Viswanathan, R., Y. M. Bhatt, C. Sreekumaran, G. R. Doshi, S. S. Gogate, A. M. Braghwat en C. K. Unni (1967). Mineral content of aquatic foods. Proc. of the Indian Academy of Sciences, Vol. 64, Section B, 301-313.
- Zijlstra, J. J. (1971). Waddenzee-kinderkamer. Visserij, 24 (2), 82-90.

Veldproeven over de invloed van koper en kwik op een natuurlijke mosselbank

P. DE WOLF, W. Ch. DE KOCK en A. STAM
Centraal Laboratorium TNO

Field experiments on the influence of copper and mercury in a natural mussel bed

Samenvatting

Het bepalen van metaalgehalten in organismen is van weinig betekenis zolang niet eveneens effecten van dergelijke gehalten (zowel fysiologisch als ecologisch) bepaald kunnen worden. Fysiologische effecten kunnen waarschijnlijk het beste in het laboratorium bepaald worden; voor ecologische effecten ligt het doen van veldexperimenten voor de hand.

Teneinde na te gaan of het mogelijk is op beperkte schaal en onder min of meer gecontroleerde omstandigheden giftigheidsproeven in zee uit te voeren werden op een mosselbank op het Balgzand enkele bassins gebouwd rondom een deel van die mosselbank. Deze bassins werden door vloed en eb van zeewater voorzien, terwijl de populatie werd blootgesteld aan doseringen Cu^{++} (300, 30 en $20 \mu\text{g} \cdot \text{l}^{-1}$) en Hg^{++} ($6 \mu\text{g} \cdot \text{l}^{-1}$) toegevoegd aan het zeewater.

Daarbij bleek dat ook lage doseringen ($20 \mu\text{g} \cdot \text{l}^{-1} \text{Cu}^{++}$) duidelijke, hoewel soms uitgestelde effecten hebben op de bio-coenose. Dit uit zich in sterfte, ophoping van de metalen en een verminderde productie van organische stof.

Inleiding

In een vorig artikel werd opgemerkt (De Wolf, 1972) dat het bepalen van metaalgehalten in organismen op zichzelf van weinig betekenis is, zolang niet bekend is hoe deze gehalten tot stand gekomen zijn, en wat het effect van een dergelijk gehalte is op het organisme en het ecosysteem.

In principe kunnen de effecten van giftige stoffen op organismen op twee manieren worden bestudeerd: in het laboratorium en in het veld.

Reeds eerder werd aangegeven (De Wolf 1965, Hueck en Adema 1968) dat giftigheidsproeven in verband met vervuilingproblemen zouden moeten worden uitgevoerd, zodanig dat de volgende punten kunnen worden bestudeerd: a) long term experimenten, bij voorkeur over meer generaties; b) transport en ophoping van de vergiften binnen en tussen soorten, bij voorkeur in een voedselketen; c) de invloed van secundaire stress (zuurstoftekort, andere giftige stoffen, honger) op de giftigheid. In verband met het feit dat het in het algemeen moeilijk en moeizaam is mariene organismen,

Summary

The determination of metal contents in organisms is of little use if the effects of such metals (physiological as well as ecological) cannot be determined at the same time. Physiological effects can probably best be studied in the laboratory, whereas for the study of ecological effects, field tests are the obvious answer.

In order to find out whether it is possible to carry out toxicity tests in the sea, on a limited scale and under more or less controlled conditions, some basins were built around part of a mussel bed on the Balgzand. The basins were flooded by the tides, and the mussel population was exposed to various concentrations of Cu^{++} (300, 30 and $20 \mu\text{g} \cdot \text{l}^{-1}$) and of Hg^{++} ($6 \mu\text{g} \cdot \text{l}^{-1}$), added to the sea water. It appeared that even low concentrations of Cu^{++} ($20 \mu\text{g} \cdot \text{l}^{-1}$) exert marked, though sometimes delayed, effects on the bio-coenosis, resulting in mortality, accumulation of the metals, and decreased production of organic matter.

ook zonder vergiftiging, in het laboratorium optimaal te houden en te kweken (zeker over de gewenste verscheidene generaties) worden giftigheidsproeven in het laboratorium veelal slechts over korte perioden (uren tot 30 dagen) uitgevoerd; dit in tegenstelling tot onderzoek in zoet water, waar met enkele vissoorten proefgegevens over verscheidene maanden bekend zijn (zie Hueck-van der Plas, dit nummer). Bovendien wordt veelal slechts de sterfte als maatstaf voor giftigheid gebruikt.

Nu moet voorop worden gesteld dat de moeilijkheden verbonden aan langdurige proeven door ons onderkend en aan den lijve gevoeld worden. Niettemin menen wij dat, juist in verband met vervuilingssituaties waarbij de giftige stoffen vaak gedurende lange tijd, hetzij geloosd, hetzij in het milieu aanwezig zijn of blijven, langdurige experimenten noodzakelijk zijn.

Aansluitend aan het artikel over het meetnet op basis van analyse van mosselvlees (De Wolf, in dit nummer van TNO-Nieuws) moet echter opgemerkt worden dat het in het algemeen niet mogelijk is mosselen (*Mytilus edulis* L.) in het laborato-

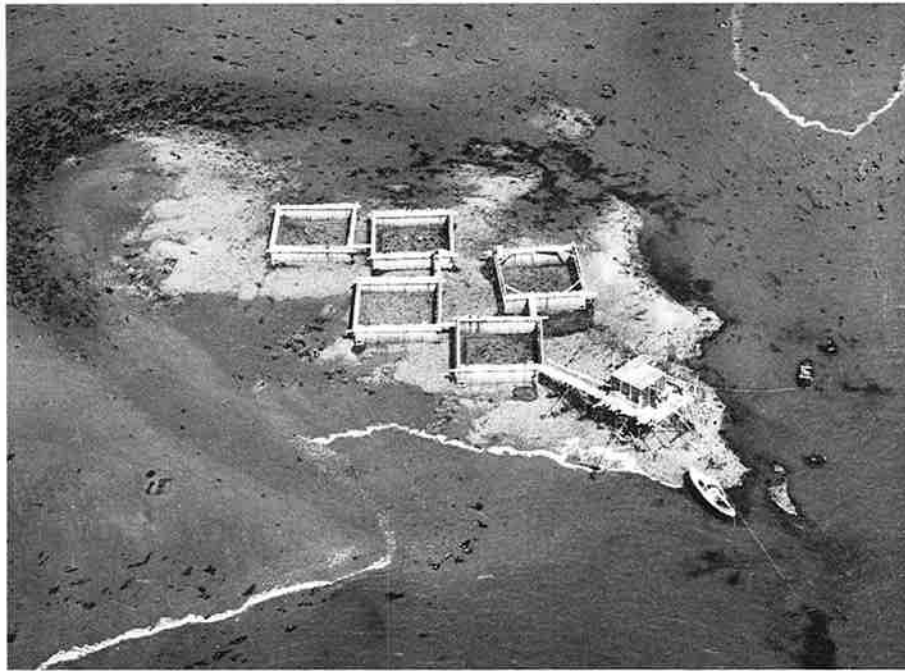


Fig. 1. Bassins gebouwd rondom een deel van een natuurlijke mosselbank op het Balgzand ten oosten van Den Helder, gefotografeerd bij laag water. De mosselbank is lichtgekleurd; rechts van de bassins op 5 m hoogte boven de mosselbank het platform, met veldlaboratorium annex onderkomen.
(foto copyright Aerophoto Schiphol)

Fig. 1. Basins built around parts of a natural mussel bed on the Balgzand, to the east of Den Helder. The photograph was taken at low tide, and the mussel bed is light-coloured. The platform, 5 metres above the mussel bed, and supporting the field laboratory and living quarters, is seen to the right of the basins.
(Copyright Aerophoto, Schiphol)

rium in goede conditie te houden voor perioden veel langer dan één maand. Tenzij grote hoeveelheden vers zeewater ter beschikking staan voor zuurstofvoorziening en voeding (2 liter per mossel per uur, *Dral* 1967) gaan de dieren snel in conditie achteruit. In het laboratorium bleek, onder zo optimaal mogelijke omstandigheden als gerealiseerd konden worden, noch groei noch vetter worden van de dieren op te treden (*Stam*, ongepubliceerde waarneming, *Adema*, dit nummer van TNO-Nieuws).

Eerder werd door vele auteurs vermeld dat bij analyse van schelpdieren het in de dieren aanwezige slib, met daarin aanwezige metaalionen, als hinderlijk werd ondervonden, in die zin dat niet bekend is welk deel van het gevonden metaal in de weefsels van het dier, en welk deel aan het slib (anorganische, dood organisch en levend plankton) in het dier aanwezig is. Anderzijds zijn echter de betekenis en de invloed van aan het slib in het dier aanwezige giftige stoffen ook niet bekend. Bovendien zijn experimenten met dieren en gesuspendeerd slib in het laboratorium moeilijk te realiseren.

Om al deze redenen besloten wij te onderzoeken of het mogelijk zou zijn giftigheidsexperimenten in het veld, onder zoveel mogelijk natuurlijke omstandigheden uit te voeren. Over die pogingen en de voorlopige resultaten daarmee gaat het nu volgende artikel.

Opzet van de proeven

Op een grote — bij laag water droogvallende — mosselbank op het Balgzand ten oosten van Den Helder werd in de zomer van 1971, en opnieuw in de zomer van 1972, een aantal houten bassins opgericht (bodemoppervlak $\pm 50 \text{ m}^2$, inhoud bij gemiddeld hoog water $\pm 50 \text{ m}^3$), voorzien van een opening ($20 \times 30 \text{ cm}^2$) op grondniveau, waardoor bij vloed zeewater kan binnenstromen en bij eb het bassin weer leegloopt (figuur 1). De bodem van het bassin is de mosselbank.

In 1971 werd bij drie van deze bassins tijdens de vloed druppelsgewijs een oplossing van CuCl_2 toegediend, gericht op het bereiken van een dosering van 300, respectievelijk 30, respectievelijk 20 ppb Cu^{++} in zeewater¹⁾; in één bassin werd HgCl_2 toegediend gericht op het bereiken van een concentratie van 6 ppb Hg^{++} in water. In 1972 werden drie doseringen Hg^{++} (0,3 ppb, 1 ppb en 3,0 ppb) toegediend. Teneinde de invloed van de aanwezigheid van het bassin als zodanig te onderzoeken (een belangrijk deel van de getijstroom over de bank wordt weggenomen) werden blanco bassins gebouwd; in 1971 werd echter dit bassin tijdens een storm stukgeslagen, in 1972 werden twee blanco bassins gebruikt. Behalve de blanco bassins werd

¹⁾ 1 ppb = $1 \mu\text{g l}^{-1}$.

ook een niet omheind deel van de mosselbank bestudeerd.

Adsorptie- en complexeringsverschijnselen van de toegediende metaalzouten werden wel verondersteld, maar niet in de doseringsberekeningen betrokken.

Metingen

In de bassins en op de blanco mosselbank werden op geregelde tijden:

a) mosselmonsters verzameld, teneinde de populatiedynamica onder invloed van de vergiftiging te kunnen bestuderen; deze monsters werden ook gebruikt ter bepaling van de ophoping van metalen in de schelpinhoud, alsmede voor de metingen aan de productie van organisch materiaal in de vorm van groei (als lengtetoeename, voornamelijk in 1972), en vetter (of magerder) worden van de dieren (uitgedrukt in asvrij drooggewicht = organische stof, voor verschillende lengteklassen).

b) in 1971 chemische en fysische bepalingen verricht over de invloed van de bassins op zoutgehalte, temperatuur, gesuspendeerd materiaal en opgeloste zuurstof. Bovendien werden geregeld bepalingen van Cu^{++} en Hg^{++} in zeewater uitgevoerd. In 1972 werden, om redenen die later uiteengezet zullen worden, geen bepalingen aan zoutgehalte, temperatuur en gesuspendeerd materiaal uitgevoerd, echter wel een groot aantal continue zuurstofmetingen, binnen en buiten de bassins.

c) gelijktijdig met de bemonstering van de mosselbank werden steeds enkele bodemkernen verzameld, terwijl ook monsters oppervlakte-slib van de bodem werden bewaard.

d) bij de bemonstering van de mosselbank werden ook andere organismen, die op en in de mosselbank leven, zoals *Macoma*, *Cardium*, *Carcinus*, *Littorina* en diverse soorten wormen steeds bewaard.

Tijdsduur van de proeven

Hoewel het de bedoeling was dat de doseringen gedurende lange tijd zouden worden voortgezet, bleek na dosering van 300 ppb Cu^{++} reeds na vijf dagen, dat een aanzienlijke sterfte optrad, niet alleen onder de mosselen, maar ook bij andere op de mosselbank aanwezige dieren. Bij *Cardium* was dit reeds na twee dagen duidelijk. De dosering werd daarom na vijf dagen gestaakt. Bij een dosering van 30 ppb Cu^{++} werd de dosering gedurende zestien dagen voortgezet; het bleek niet mogelijk bij de aanwezige personeelsbezetting gedurende de vakantieperiode door te werken aan dit project. De doseringen van 20 ppb Cu^{++} en 6 ppb Hg^{++} wer-

den, na de vakantieperiode, gedurende 41 respectievelijk 36 dagen voortgezet; tenslotte moet opgemerkt worden dat in 1972 de doseringen in eind mei begonnen en zonder onderbreking tot midden september werden uitgevoerd, over een periode van ongeveer 100 dagen.

Eliminatie-experimenten

De eliminatie van in de organismen opgehoopt metaal werd in 1971 bestudeerd door na het einde van de doseringen de mosselbank nog enige tijd te bemonsteren, terwijl de zeewatervoorziening in de bassins normaal bleef voortgaan. In 1972 werden delen van mosselmonsters in het langs de bassins stromende zeewater gedurende verschillende tijden bewaard; op deze wijze kon ook de dosering in de bassins zo lang mogelijk worden voortgezet.

Bemonstering mosselbank

De wijze van bemonstering van de mosselbank is in de loop van de tijd veranderd. Hoewel bij de aanvang van de proeven bekend was dat een mosselbank zeer variabel kan zijn in samenstelling (kwalitatief en kwantitatief) werd, bij gebrek aan beter, aangenomen dat een $\frac{1}{2}$ m² mosselbank (aselekt gekozen) een representatief beeld zou geven van de mosselbank in het bassin. Dit bleek niet juist. Daarna werd gedurende de winter 1971-1972 in het veld bepaald, door bemonstering van 18×18 cm² grote delen van een stuk mosselbank ter grootte van 7×7 m² dat een representatief monster van zo'n mosselbank (aantal mosselen in de verschillende grootteklassen binnen 10% van het populatiegemiddelde met een overschrijdingskans $p = 0,05$) wordt verkregen op 14 aselekt gekozen oppervlakjes van 18×18 cm². De complicaties van de statistische analyse van de representativiteit zullen elders in meer detail worden uiteengezet.

Resultaten

Het zal duidelijk zijn dat de analyse van de vele verkregen mosselmonsters en bodemmonsters een tijdrovende bezigheid is; op dit ogenblik zijn dan ook niet alle resultaten van de experimenten van 1971 beschikbaar, terwijl de verwerking van het in 1972 verkregen materiaal nog goeddeels moet beginnen. In deze paragraaf zullen de resultaten van 1971 dan ook niet uitputtend kunnen worden besproken, terwijl van die van 1972 slechts een algemene indruk kan worden gegeven. Deze resultaten zullen in enkele groepen worden verdeeld:

— de fysische en chemische overeenkomst en verschillen in de invloeden die werken op de mosselbank in de bassins en op de blanco mosselbank.

- de populatiedynamica van de mosselen binnen en buiten de bassins;
- de ophoping en, na ophoping, de afgifte van koper en kwik door mosselen;
- de produktie van organische stof, gemeten als toeneming en afname van het gemiddelde asvrij drooggewicht, en als groei.

Fysische en chemische metingen

Allereerst dient te worden opgemerkt, dat hoewel de bassins ieder getij opnieuw van vers zeewater worden voorzien, het in de inleiding gestelde ideaal van gemiddeld 2 liter water per mossel/uur niet wordt bereikt. Het aantal mosselen per oppervlakte-eenheid op een mosselbank is zeer groot (zie onder), en de hoeveelheid water in de bassins bij een gemiddeld getij hoogstens 50 m³. Ruwweg kan worden gesteld dat slechts 12 tot 25% van de genoemde 2 liter per mossel/uur beschikbaar is; het zal duidelijk zijn dat dit echter in hoge mate afhankelijk is van de mate van bedekking van de bodem van de bassins met mosselen.

Het zoutgehalte van het zeewater binnen de bassins bleek systematisch af te wijken van dat buiten de bassins, in die zin dat het zoutgehalte in de bassins bij vloed vrijwel steeds lager, en bij eb steeds hoger is dan het zoutgehalte van het omringende zeewater. Bovendien waren de snelle fluktuaties in het omringende zeewater in de bassins steeds afwezig; hieruit kan afgeleid worden dat in de bassins een goede menging van het water optrad. De absolute grootte van de verschillen tussen water binnen en buiten de bassins is evenwel gering; veel kleiner dan de wisselingen waaraan de mosselbank normaal in de loop van een getij is blootgesteld. Voor de temperatuur van het water geldt in grote trekken hetzelfde als voor het zoutgehalte; de afwijkingen van de temperatuur van de bassins zijn van geringe betekenis ten opzichte van de gedurende een getij optredende wisselingen op een niet omheinde mosselbank.

De hoeveelheid in water gesuspendeerd materiaal vertoont duidelijk verschillen tussen bassins en blanco mosselbank. Met de getijstroom worden aanzienlijke hoeveelheden gesuspendeerd materiaal verplaatst; op de mosselbank geldt dit zowel voor de vloed als de eb. Bij afneming van de getijstroom zakt een deel van dit materiaal uit de waterkolom uit, om bij de volgende toeneming van de stroomsterkte weer opnieuw gesuspendeerd te worden. In de bassins stroomt met het vloedwater een hoeveelheid slib mee, dat bij gebrek aan stroom, bij eb de bassins niet geheel weer verlaat. Voor drie bassins werd berekend dat op deze wijze in ongeveer 40 dagen (78 getijden) in totaal 14-33 kg gesuspendeerd materiaal (als drooggewicht) werd toegevoerd.

Over de zuurstofvoorziening van de dieren kan nu slechts weinig gezegd worden. Hoewel in 1971 en

kele metingen werden uitgevoerd, lijken deze niet representatief. Metingen in 1972 gedaan wijzen er op, dat, afhankelijk van weersomstandigheden, soms de zuurstofverzadiging in de bassins kan dalen tot 75%. Dit gebeurt voornamelijk bij zeer rustig weer, als er weinig menging in de bassins optreedt in de waterlaag onmiddellijk boven de mosselen. De gevolgde doseringsmethode is uiterst primitief: uit een voorraadfles, aanwezig in het bassin, werd druppelsgewijs een 10.000-voudig geconcentreerde oplossing overgeheveld in de stroom die door de opening van het bassin binnenkomt, vanaf het ogenblik dat de vloed binnenkomt, tot hoog water. Aangezien echter de getijkromme niet lineair, noch een eenvoudige sinus is, en een hevelsnelheid afhankelijk is van de hoogte waarover geheveld wordt (naarmate de fles leegraakt, loopt de hevel langzamer) liet de dosering veel te wensen over. De bereikte concentraties Cu⁺⁺ en Hg⁺⁺ werden echter ieder uur bemonsterd, en later geanalyseerd, terwijl op grond van waterstand in de bassins en de gedoseerde hoeveelheid de hevelsnelheid vaak bijgesteld werd. (Inmiddels werd een door de waterhoogte gestuurde doseermachine ontwikkeld; deze wordt thans getoetst op gebruik in het veld.) De resultaten van metingen aan concentraties Cu en Hg tonen het volgende beeld (tabel 1):

Tabel 1

	gemiddeld over alle getijden	uiterste waarden
blanco zeewater juni/juli	10 ppb Cu	3 - 19 ppb Cu
blanco zeewater aug./sept.	5 ppb Cu	1 - 10
bassins 300 ppb Cu ⁺⁺	223 ppb Cu	45 - 444
bassins 30 ppb Cu ⁺⁺	42 ppb Cu	20 - 61
bassins 20 ppb Cu ⁺⁺	21 ppb Cu	8 - 32
blanco zeewater	0,22 ppb Hg	0,1 - 0,4
bassins 6 ppb Hg	2,6 ppb Hg	0,2 - 4,9

Hieruit blijkt dat de gestelde doelen ten aanzien van de constante dosering gedurende langere tijd niet werden bereikt; het bleek zelfs in één getij niet mogelijk de dosering constant te houden. Opvallend is wel, dat bij koper de gewenste concentraties vrijwel bereikt werden; terwijl bovendien de afwijkingen daarvan naar boven verklaard kunnen worden uit te hoge doseringen. De lage waarden in geval van koper moeten worden toegeschreven aan de ebperiode, waarbij geen koper aan de bassins werd toegevoegd, maar de opname door mosselen nog doorging. In het geval van kwik werd de gewenste concentratie nooit bereikt, ook niet bij toevallige overdosering. Een deel van het gedoseerde Hg⁺⁺-ion wordt blijkbaar vrijwel onmiddellijk zodanig gebonden dat het voor de gevolgde analyse (onmiddellijk aanzuren tot pH = 1) onbereikbaar wordt. Dit bleek eveneens het geval te zijn in 1972 bij een dosering van 3 ppb Hg⁺⁺.

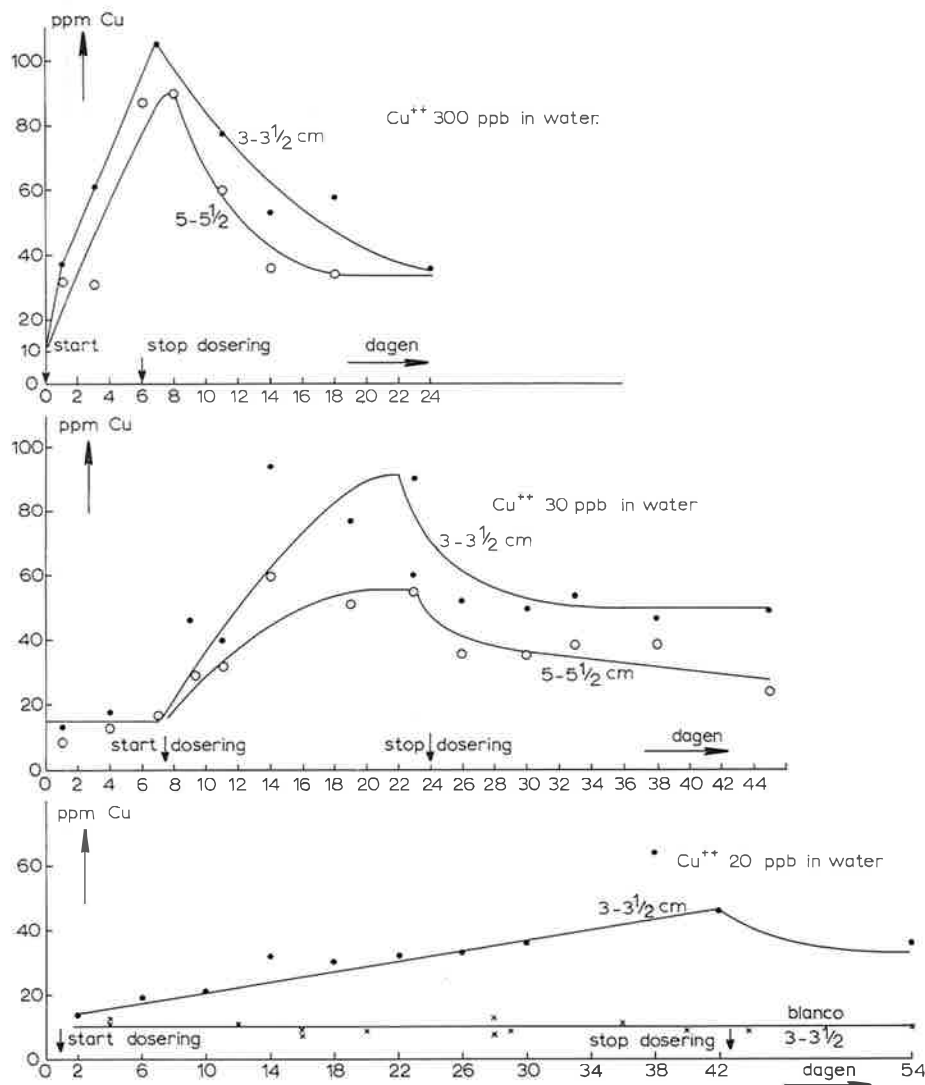


Fig. 2. Gehalten van koper in mosselvlees (ppm in droog vlees) bij dosering van 300 ppb, 30 ppb en 20 ppb Cu^{++} , gedurende verschillende perioden toegevoegd, gevolgd door toediening van zeewater dat uitsluitend natuurlijk Cu bevat. Er zijn twee grootteklassen mosselen geanalyseerd: 3-3 1/2 cm (.) en 5-5 1/2 cm (o); tevens is het kopergehalte van 3-3 1/2 cm mosselen in een blanco proef aangegeven (x).

Fig. 2. Copper content (in ppm) of dried soft parts of mussels exposed to concentrations of 300, 30 and 20 ppb of Cu^{++} in sea water, and afterwards to natural sea water containing only „background” copper. Two size groups of mussels were analyzed: 3-3 1/2 cm (.) and 5-5 1/2 cm (o). The copper content of mussels of 3-3 1/2 cm in a blank test is also indicated (x).

Als hypothese kan naar voren worden gebracht dat het sorptie-evenwicht van Hg^{++} tussen water en gesuspendeerd materiaal in de richting van het slib verschuift.

Populatiodynamica

De verkregen gegevens over de populatiodynamica van de bassins zullen elders gepubliceerd worden; hier zullen slechts de voornaamste resultaten gegeven worden.

Zoals eerder werd opgemerkt, vertoont een mosselbank een grote ruimtelijke variatie in aantallen per grootteklasse per m^2 ; eveneens werd aangegeven dat de gevolgde bemonsteringsmethode niet representatief te achten was. Niettemin blijkt dat

een vergiftiging van een mosselbank met 300 ppb Cu^{++} binnen enkele weken fataal is voor de gehele biocoenose²⁾; bij dosering van 30 ppb Cu^{++} is na een periode van vijf weken een verhoogde sterfte bij oudere (grotere) dieren waarneembaar, terwijl bij dosering van 20 ppb Cu^{++} na een periode van zes weken nog geen duidelijk effect te zien is. Een netto toename van de populatie met jonge dieren is onder geen van de toegepaste Cu^{++} -concentraties duidelijk waarneembaar; voor de 300 ppb en 30 ppb Cu^{++} -bassins moet dit worden toegeschreven aan de aanwezigheid van de Cu^{++} -dosering. Voor het 20 ppb Cu^{++} -bassin kan geen uitspraak

²⁾ De levende wezens in een bepaald gebied, zoals zij op elkaar zijn ingesteld.

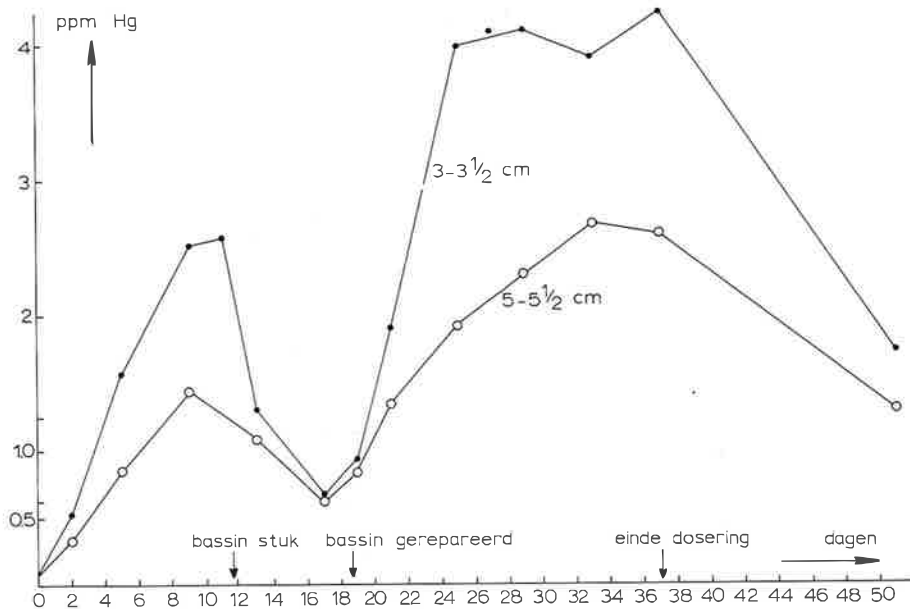


Fig. 3. Gehalten van kwik in mosselvlees (ppm in vers vlees) bij dosering van 6 ppb Hg^{++} in zeewater. De Hg^{++} -dosering werd onderbroken van de 12e tot en met de 18e dag; het bassin was vernield door een storm. Twee grootteklassen mosselen werden geanalyseerd: 3-3 $\frac{1}{2}$ cm lang (.) en 5-5 $\frac{1}{2}$ cm lang (o).
Hg-gehalte in blanco mosselen 3-3 $\frac{1}{2}$ cm: 114 \pm 6 ppb (9 bepalingen); 5-5 $\frac{1}{2}$ cm: 150 \pm 25 ppb (18 bepalingen).

Fig. 3. Mercury content (in ppm) of fresh soft parts of mussels exposed to 6 ppb of Hg^{++} in sea water. The administration of Hg was interrupted between the 12th and the 18th day of the test, after the basin had been destroyed by a gale. Two size groups of mussels were analyzed: 3-3 $\frac{1}{2}$ cm lang (.) and 5-5 $\frac{1}{2}$ cm lang (o). The mercury content of „blank” mussels of 3-3 $\frac{1}{2}$ cm was found to be 114 \pm 6 ppb (9 determinations), and of the size group 5-5 $\frac{1}{2}$ cm was 150 \pm 25 ppb (18 determinations).

worden gedaan over de invloed op de immigratie van jonge dieren, aangezien dit experiment werd uitgevoerd in een tijdvak waarin geen immigratie meer plaatsvindt (augustus tot oktober).

Ten aanzien van de in 1972 uitgevoerde proeven met 3 ppb, 1 ppb en 0,3 ppb Hg^{++} bestaat de indruk dat na ongeveer 75 dagen de invloed op de mortaliteit gering is, behalve misschien in de hoogste dosering voor grotere dieren. Er zijn tevens aanwijzingen dat de immigratie van jonge dieren op de bank bij 3 ppb Hg niet of nauwelijks plaatsvindt.

De ophoping van Cu^{++} en Hg^{++} in mosselvlees

De resultaten van de metingen aan de ophoping van Cu^{++} en Hg^{++} in mosselvlees zijn gegeven in de figuren 2 en 3. Uit figuur 2 blijkt dat in alle gevallen onmiddellijk na de aanvang van de dosering met Cu^{++} het gehalte in mosselvlees stijgt tot een waarde van 90 à 100 ppm voor 3-3 $\frac{1}{2}$ cm grote mosselen, terwijl de stijging van het gehalte in 5-5 $\frac{1}{2}$ cm mosselen langzamer verloopt en doorgaat tot een waarde van 60 à 80 ppm.

Ook bij lage doseringen (20 ppb Cu^{++}) stijgt het gehalte voortdurend.

Opvallend is voorts dat na stopzetting van de dosering het bereikte gehalte in mosselvlees snel afneemt tot een waarde tussen 30-50 ppm, maar op die waarde constant aanwezig blijft.

De opname van Hg^{++} uit zeewater dat nominaal 6 ppb Hg^{++} bevat is gegeven in figuur 3; hier blijkt dat de opname van Hg^{++} eveneens snel verloopt en dat er evenals bij Cu^{++} een duidelijk verschil is voor mosselen van verschillende grootteklassen. Het ongeluk dat dit experiment trof in de vorm van het stuk slaan van het bassin door een storm, blijkt enkele interessante gegevens op te leveren; na het stuk slaan werd de dosering van Hg gestaakt. Het blijkt nu dat het kwikgehalte van de mosselen snel afneemt, veel sneller dan na beëindiging van de proef op de 37e dag, waarbij wel de dosering gestaakt werd, maar het bassin tot na de 51e dag intact bleef. In de tijd tussen het stuk slaan en het herstel van het bassin stroomde de zee ongehinderd door het overgebleven deel van het bassin; wij menen dat in die tijd een deel van het kwikrijke slib in het bassin vervangen is door minder kwikrijk slib en dat het in de mosselen aanwezige kwikrijke slib eveneens vervangen is door kwikarmer slib. Na de beëindiging van de dosering (37 dagen) bleef het bassin intact, en bleef ook het toen weer kwikrijk geworden slib in de nabijheid van de op de 51e dag verzamelde mosselen aanwezig.

Opvallend is verder dat er een tendens is dat de 3-3 $\frac{1}{2}$ cm mosselen bij 4 ppm verder geen kwik ophopen; bij de 5-5 $\frac{1}{2}$ cm mosselen is dit effect afwezig. Wij menen dat de proef dan ook onvoldoende lang geduurd heeft. Over de ophoping van

kwik in de experimenten van 1972 zijn op dit ogenblik geen gegevens beschikbaar.

Productie van organisch materiaal

Van de in 1971 verzamelde mosselen werd steeds het asvrij drooggewicht per gemiddelde mossel (uit monsters van circa 100 mosselen) bepaald. De verkregen gegevens zijn vermeld in tabel 2.

Tabel 2. Gewichtsverandering per 10 dagen van het asvrij drooggewicht van mosselen in mg/mossel

zeewater samenstelling	grootteklasse van de mosselen		
	3-3½ cm	4-4½ cm	5-5½ cm
blanko	+0,011	+0,017	+0,022
6 ppb Hg ⁺⁺	-0,023	-0,023	-0,028
20 ppb Cu ⁺⁺	-0,013	-0,025	-0,028
30 ppb Cu ⁺⁺	0,00	0,00	0,00 *)
300 ppb Cu ⁺⁺	-0,080	-0,120	-0,160

*) zie tekst.

Het blijkt dat alle drie de vermelde grootteklassen in het 300 ppb Cu⁺⁺, in het 20 ppb Cu⁺⁺ en in het 6 ppb Hg⁺⁺ bassin gedurende de dosering significant vermageren, terwijl de mosselen op de blanco bank duidelijk vetter worden. Opgemerkt moet worden dat de spreiding in de punten moet worden toegeschreven aan de eerder genoemde niet-representatieve monsters; duplobepalingen aan één monster leidden tot een spreiding die kleiner is dan de in de grafiek aangegeven punten.

In het 30 ppb Cu⁺⁺-bassin kan noch vermagering, noch nog vetter worden aangetoond worden; waarschijnlijk moet dit ook aan de inadequate monster-neming worden toegeschreven. Opvallend is ook dat er een duidelijk verband bestaat tussen de asvrije drooggewichten van de drie grootteklassen van monster naar monster; wij achten dit een argument voor de stelling dat de mosselen op sommige plaatsen op de bank vetter zijn dan op andere. Dit argument steunt het bovenstaande betreffende de inadequate wijze van bemonsteren van de bank.

Tenslotte zal het duidelijk zijn dat de in figuren 2 en 3 vermelde ophoping niet toegeschreven kan worden aan gewichtsverlies en moet worden vermeld, dat ook lage doseringen met als gevolg een te geringe productie van reservestoffen (20 ppb Cu⁺⁺) uitgestelde effecten kunnen hebben. In het voorjaar van 1972 bleken alle mosselen van het 20 ppb Cu⁺⁺-bassin gedurende de winter te zijn gestorven; in de mosselbank bleef steeds een grote kale plek over.

Gegevens betreffende productie van organische stof in de bassins van 1972, als asvrij drooggewicht en groei, zijn op dit moment nog niet beschikbaar.

Discussie

Bij een discussie van de hier gepresenteerde resultaten moet voorop gesteld worden dat deze weinig zinvol is zolang de effecten van een bassin als zodanig niet bekend zijn. Aangezien, zoals vermeld, het blanco bassin na korte tijd reeds tijdens een storm werd vernield, ontbreken de gegevens voor een evaluatie van deze effecten.

Een tweede punt van kritiek op de methode is dat de mosselbank niet zo royaal met zeewater wordt voorzien als op grond van de literatuur wel wenselijk wordt geacht.

Niettemin kan worden gesteld dat werd aangetoond dat het op deze wijze mogelijk is gebleken langdurige proeven onder de sterk wisselende omstandigheden in het veld uit te voeren, waarbij speciaal in 1972 is gebleken dat het mogelijk is om proefduren van ~ 100 dagen te bereiken. Verder is de methode geschikt om met grote aantallen dieren in representatieve monsters t.a.v. metaalgehalten te werken (zie *De Wolf*, meetnet, in dit nummer van TNO-Nieuws).

We kunnen onze veldproef bij 20 ppb proberen te vergelijken met de laboratoriumproef bij 17 ppb (zie *Adema, De Swaaf-Mooy en Bais*, dit nummer van TNO-Nieuws). Bij deze laatste proef trad eerder sterfte op dan bij de veldproef. In het laboratorium wordt gewerkt met ongevoerde dieren en in slibvrij water. In de veldproef wordt gewerkt met natuurlijk gevoede dieren die hierdoor mogelijk meer weerstand hebben. Het slib in de veldproef kan enerzijds veel Cu⁺⁺ absorberen en daardoor de concentratie in het water verlagen, maar anderzijds kan ook het koperhoudende slib in direct contact met het dier komen. Het biologisch effect van dit laatste is nog niet afzonderlijk bepaald. Hierbij moet worden overwogen, dat enerzijds in onze dosering uitschieters naar boven van 32 ppb, anderzijds lage waarden van 8 ppb voorkwamen. Het lijkt mogelijk dat tijdens perioden van lage dosering Cu wordt afgegeven. Overwogen moet echter worden dat na 42 dagen in onze proef het Cu-gehalte van de mosselen slechts tot ± 40 à 50 ppm is gestegen, terwijl eerst bij 80 à 100 ppm sterfte optreedt. Niet uitgesloten kan worden dat adsorptie- en complexeringsverschijnselen in natuurlijk zeewater anders verlopen dan in synthetisch zeewater, waarin bij de dosering de complicatie van de aanwezigheid van slib afwezig is. Tenslotte moet worden opgemerkt dat de waargenomen sterfte na het winterseizoen en de langzame stijging van het kopergehalte van de mosselen in de proef met 20 ppb Cu⁺⁺ aanduidingen zijn voor een uitgestelde sterfte zodat het aannemelijk lijkt dat de tolerantiegrens voor vers toegevend koper ~ 20 ppb ligt.

Een volledige discussie over de mogelijkheden van deze methodiek van veldonderzoek zal gegeven worden nadat gegevens betreffende het gedrag van

(Slot op bladzijde 504)

Een meetnet voor zware metalen langs de Nederlandse kust

A monitoring system for heavy metals along the Dutch coast

Drs. P. DE WOLF, Mej. W. E. LEWIS
Centraal Laboratorium TNO

Samenvatting

Door middel van het geregeld verzamelen van mosselen op 42 plaatsen langs de Nederlandse kust werd een onderzoek ingesteld naar de mate van vervuiling door metalen. Naar analogie van laboratoriumgegevens, met veel hogere kwikgehalten in water, wordt aangenomen dat hogere kwikgehalten in het zeewater zullen leiden tot hogere kwikgehalten in mosselvlees; een exact verband is echter niet bekend. De resultaten die met zo'n meetnet bereikt kunnen worden, worden hier toegelicht aan de analysecijfers voor Hg. Ondanks diepgaand vooronderzoek naar representatieve monstergrootte e.d. blijken toch vrij grote variaties op te treden in kwikgehalten in mosselvlees ($\mu\text{g Hg kg}^{-1}$ vers mosselvlees).

Hoewel het waarschijnlijk lijkt dat een seizoensvariatie aanwezig is (hoge gehalten in de winter en lage in de zomer, als gevolg van mager resp. vet zijn van de mosselen), zijn ook nog andere, snellere, veranderingen in kwikgehalten aanwezig, mogelijk als gevolg van afgifte van geslachtsprodukten. Voor individuele monsterplaatsen konden geen duidelijke konklusies worden bereikt; voor grotere gebieden is het duidelijk dat het kwikgehalte van mosselen in het Eems-Dollard estuarium verhoogd is t.o.v. alle andere Nederlandse mosselen. In de oostelijke Waddenzee daarentegen komen de laagste kwikgehalten voor. De gehalten in vlees van mosselen uit Westerschelde, Oosterschelde, de westkust en de westelijke Waddenzee ontlopen elkaar niet veel. Ook deze zijn echter zeer hoog indien vergeleken met de Centrale Noordzee en de Hebriden.

Summary

By means of regular catches of mussels from 42 sites along the Dutch coast, an investigation was made into the extent of sea pollution by metals. Laboratory tests with much higher mercury concentrations indicate that increased mercury concentrations in sea water will lead to increased mercury contents of the mussels that live in it. However, a precise relationship between these two quantities is not known. In spite of intensive efforts to find representative sample sizes, fairly large variations are found in the mercury contents of mussels ($\mu\text{g Hg per kg of fresh soft parts}$). Although it is likely that there are seasonal variations (the mussels being fatter in the summer than in the winter), there are still other, more rapid variations, possibly due to sexual excretions.

For separate sampling sites no clear-cut conclusions could be drawn; for the larger area of the Eems-Dollard estuary it was found that the mussels from that area contain more mercury than any other mussels from the Netherlands. In the eastern Waddenzee, however, mercury contents are lowest. The mercury contents of mussels from the Westerschelde, the Oosterschelde, the west coast, and the western Waddenzee do not differ much. They are very high, however, as compared with those of mussels from the central North Sea and the Hebrides.

(Slot van bladzijde 503)

de mosselen in de blanco bassins van 1972 bekend zijn; dan zullen ook de verdere mogelijkheden van dit veldonderzoek (voedselketen, e.d.) nader worden uitgediept.

Dankwoord

Aan een project van een dergelijke omvang werken velen mee; het is ondoenlijk een ieder die bijdroeg tot dit onderzoek hier met name te noemen. Een uitzondering wensen wij te maken voor onze naaste medewerkers, mej. Wilma E. Lewis, B. Schrieken, en P. Roele, die met de bemanning van dit project een buitengewone prestatie leverden. De koperanalyses werden uitgevoerd, zowel in water als in

mosselvlees, door J. van Hooven en W. Brouwer, de kwikanalyses in mosselvlees door W. van Dijk en J. H. L. Zwiers.

Literatuur

- Wolf, P. de, (1965): Problemen bij de lozing van afval en afvalwater in zee.
TNO-Nieuws 20, 924-934.
- Hueck, H. J. en D. M. M. Adema (1968): Toxicological investigations in an artificial ecosystem. A progress report on copper toxicity towards algae and daphniae.
Helgoländer Wiss. Meeresunters. 17, 188-199.
- Dral, A. D. G. (1967): The movements of the latero-frontal cilia and the mechanisms of particle retention in the mussel (*Mytilus edulis* L.).
Netherlands J. Sea Res. 3 (3), 391-422.

Inleiding

In de herfst van 1970 werd begonnen met een onderzoek naar de mogelijkheid om met behulp van het verzamelen van mosselen (*Mytilus edulis* L.) en analyseren van de schelpinhoud van deze dieren vast te stellen in hoeverre metalen bijdragen tot de vervuiling van het kustwater van Nederland.

De keuze van de mossel als proefdier werd gegeven door een vijftal overwegingen:

- Het dier kan op vele plaatsen langs de Nederlandse kust in grote aantallen verzameld worden.
- Het is bekend dat *Bivalvia* in het algemeen metalen ophopen t.o.v. het water waarin ze leven; daarom mag verwacht worden dat de te bepalen concentraties hoger zullen zijn dan de concentraties in zeewater, en dus gemakkelijker te analyseren.
- Verwacht werd, dat de proefdieren een zekere mate van integratie in de tijd zouden bewerkstelligen, waardoor piekbelastingen die bij discontinue bemonsteren van water aan de aandacht kunnen ontsnappen, mogelijk teruggevonden kunnen worden.
- De keuze van een sedentair (vastzittend) organisme ligt voor de hand; het dier is representatief voor een bepaalde plaats.
- Het gebruik van een organisme, tenslotte, opent de mogelijkheid te zoeken naar effecten van toxische stoffen. Daarbij moet opgemerkt worden dat, als het geval van vergiftiging zeer sterk is, de dieren alle afsterven en de basis voor het meetnet geheel wegvalt.

Resultaten van dergelijke meetnetten zijn de laatste jaren enkele malen gepubliceerd (*Koeman c.s.* 1971, *Portmann* 1971, *Bryan* 1971, *Preston* 1972, *Butterworth* 1972). Uit het werk van *Koeman c.s.* bleek dat het Hg gehalte in mosselen langs de Nederlandse kust hoog is; uit de andere genoemde stukken blijkt, dat er inderdaad concentratie t.o.v. water plaats vindt, maar tevens dat de mate van concentrering variabel is. Hoewel dus enkele gegevens voor de Nederlandse kust bekend waren (*Koeman c.s.* 1971) leek het gewenst dit soort onderzoek zowel geografisch als in de tijd uit te breiden, zowel voor Hg als voor andere metalen. Bovendien werd het wenselijk geacht aandacht te besteden aan monstergrootte in verband met de statistiek, en aan de conditie van de verzamelde dieren.

Oorspronkelijk was het de bedoeling in dit kopnummer de resultaten van de koperanalyses te geven; deze bleken echter niet tijdig klaar te zijn. Aangezien echter vele van de algemene principes eveneens aan andere metalen gedemonstreerd kunnen worden, zullen onze, overigens ook meer complete, Hg gegevens hier gebruikt worden.

Enkele literatuurgegevens

Uit het bovengenoemde artikel van *Koeman c.s.* blijkt dat mosselen uit de Waddenzee in de periode februari - maart 1970 een gemiddeld Hg gehalte hadden van 122 ppb Hg (op basis van versgewicht vlees), met een spreiding van 80-230 ppb; hierbij moet opgemerkt worden dat het Eems-Dollard estuarium niet bemonsterd werd. Het kwikgehalte van mosselen van de Nederlandse westkust varieerde in april 1970 van 110-310 ppb met een gemiddelde van 189 ppb. In dit onderzoek was het aantal mosselen per monster veelal klein. Er werd een verband aangetoond tussen de grootte van de mosselen en het Hg gehalte; hoe groter de mossel hoe hoger het Hg gehalte. Hoewel deze relatie significant is ($p = 0,03$) is de spreiding in de waarnemingen wel groot.

Nu is tevens bekend dat:

- de verdeling van metaalgehalten over biologische individuen over het algemeen geen Gaussverdeling is (*Bowen* 1966). Dit heeft gevolgen voor de representativiteit van monsters mosselen. Ik kom daar later op terug.
- mosselen een seizoensvariatie vertonen in hun watergehalte (van 79% in september tot 87% in maart), vetgehalte (laag in juli en toenemend tot maart), eiwitgehalte (laag in juli en toenemend tot februari) en koolhydraatgehalte (laag in april en toenemend tot juli en daarna afnemend tot april) (*Williams* 1969). Bij onze me-

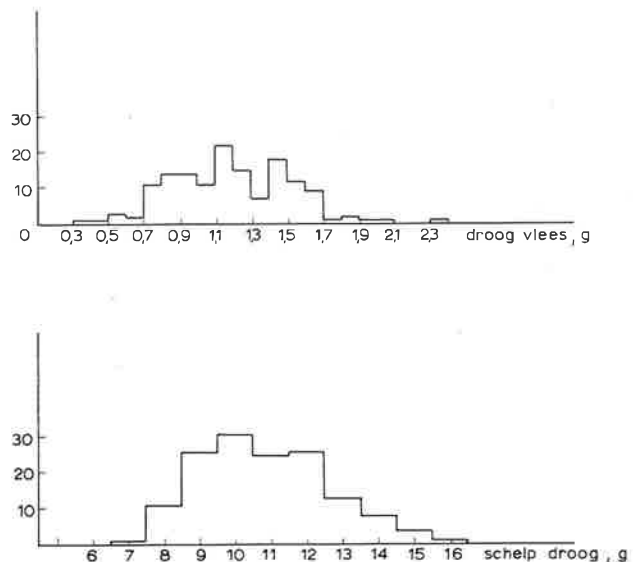


Fig. 1. Frequentieverdeling van vleesgewicht en schelpgewicht (beide droog) in 146 mosselen van 55-60 mm lang. Balgzand, 15.10.70. Alle dieren op 1 m² verzameld.

Frequency distribution of dry weight of soft parts (top) and dry weight of shells (bottom) of 146 mussels, 55-60 mm long, collected on 15/10/1970 on the Balgzand from 1 m² of mussel bed.

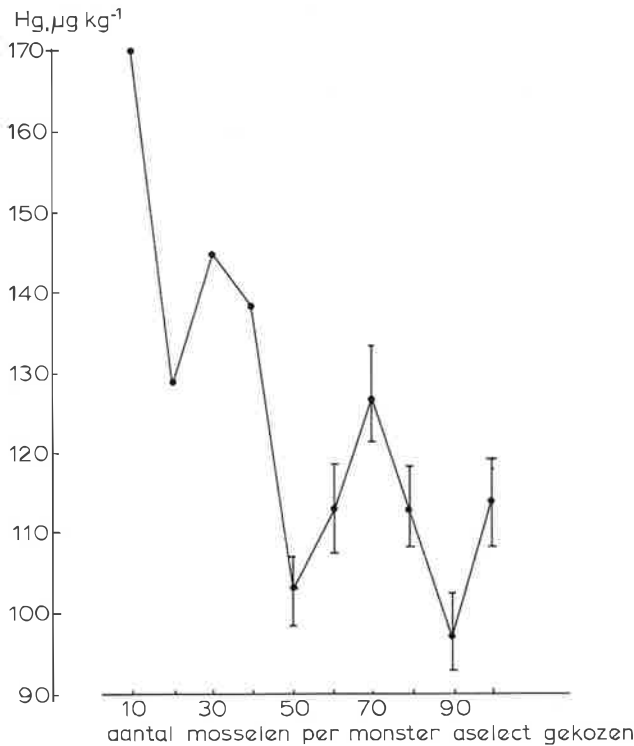


Fig. 2. Het verband tussen monstergrootte en Hg gehalte in vers mosselvlees.

Bij kleine aantallen mosselen zijn de variaties tussen opeenvolgende monsters veel groter dan bij grote aantallen mosselen.

The relation between sample size and mercury content of fresh soft parts of mussels.

For small numbers of mussels, the variations between successive samples are much greater than for large numbers.

aantal mosselen per aselekt gekozen monster.
number of mussels in a random sample
Hg, µg kg⁻¹.

tingen bleek dat in de getijdzone levende mosselen mager zijn in het voorjaar, vetter worden gedurende de zomer en vroege herfst en vervolgens weer vermageren gedurende de herfst en winter (fig. 4).

Bovendien is bekend, dat het asgehalte van mosselen varieert gedurende het jaar; het asgehalte is hoog in maart en laag in september.

- c. het vleesgewicht van individuele mosselen op een bepaalde plaats op een bepaald tijdstip een zeer grote variatie (van een faktor 8) kan vertonen, zie fig. 1 (De Wolf 1971).

Het is niet bekend in hoeverre de onder a en c genoemde variaties in causaal verband met elkaar staan; het lijkt mogelijk, dat, gezien de geringe mobiliteit van aan eiwit gebonden kwik, bij een sterk vermagerend dier het Hg gehalte alleen reeds daarvoor sterk stijgt. Bij sterk groeiende dieren zou het gehalte af kunnen nemen door „verdunning” van het kwik met organische stof.

Vorbereidingen

Wanneer voor de berekening van het gehalte de formule

$$\text{gehalte (ppb)} = \frac{\text{gewicht kwik (ng)}}{\text{gewicht vlees (g)}}$$

gebruikt wordt, dan moet zowel de term boven de breukstreep als die onder de breukstreep representatief zijn voor de bemonsterde mosselpopulatie.

Door middel van een grafische methode kan aangetoond worden dat voor de mosselpopulatie van fig. 1, een representatief monster, d.w.z. een monster waarvan het gemiddelde vleesgewicht niet meer dan 10% afwijkt, met een overschrijdingskans van $p = 0,05$, van het populatiegemiddelde, uit tenminste 30 aselekt gekozen mosselen moet bestaan.

Vergelijking van de kwikgehalten van 2 series op deze wijze verkregen duplo-monsters toonde aan dat deze aanmerkelijke verschillen (tot een faktor 2) vertoonden. In verband hiermede werd het kwikgehalte bepaald van monsters aselekt gekozen mosselen, van één bepaalde plaats, bestaande uit 10, 20, 30 etc. 100 mosselen. De verkregen waarden staan in de grafiek van fig. 2. Hieruit blijkt, dat eerst bij monsters bestaande uit tenminste 60 mosselen de schommelingen geringer worden; uit het verschil in aantal voor een representatief monster ten aanzien van vleesgewicht en kwikgehalte volgt tevens dat de verschillen in kwikgehalten niet kunnen worden toegeschreven aan verschillen in vleesgewicht tussen monsters.

Om echter te komen tot getallen die iets betrouwbaarder zijn dan de genoemde $\pm 10\%$ zijn steeds monsters van 100 mosselen verzameld; in verband met de resultaten van Koeman c.s. (1971) betreffende het verband tussen de grootte van de mosselen en het kwikgehalte zijn bovendien zo veel mogelijk mosselen verzameld van 3-3½ cm. Op enkele plaatsen langs de kust (Nansum, Den Oever, Westerland) bleek het niet steeds mogelijk (op grond van de beschikbare tijd) voldoende exemplaren van deze maat te verzamelen; dan werden dieren van 3-4 cm lengte gemonsterd. Te Kornwerderzand werden als regel 100 exemplaren van alle maten, veel groter dan 3½ cm, verzameld.

Wegens de genoemde seizoensvariatie in lichaamsamenstelling van de mosselen werd de bemonstering éénmaal per 2 maanden uitgevoerd op 41 plaatsen langs de Nederlandse kust (voor deze plaatsen zie tabel I), terwijl éénmaal per maand alle grootteklassen $> 2½$ cm werden bemonsterd op het Balgzand ten oosten van Den Helder. Steeds werden de mosselen in de getijdzone verzameld.

De verkregen mosselen werden diepgevroren bewaard. Na ontdooien werd het vlees er uitgesneden, gehomogeniseerd, en vervolgens werden bepaald het drooggewicht, het asgehalte en het ge-

Tabel 1. Hg gehalten in mg/kg in vers vlees

Table 1. Mercury content in mg/kg of fresh soft parts of mussels

Totaal Hg in ppb	maart	mei	juli	sept.	nov.	dec.	jan. 1972	febr.
WESTERSCHELDE								
Hoofdplaat				84	92		279	
Breskens				179	150		140	
Westkapelle	163	151	142	123	171		190	
Vlissingen	96	130	156	93	158		312	
Sloehaven	154	179	171	174	157		121-193	
Borssele	123	110	125	62	87		138	
Ellewoutsdijk	109	135	149	82	161		154	
Baarland	127	161	139	92	115		163	
Hoedekenskerke	124	129	160	112	158-142		147	
Hansweert	158	138	165-182	116	—		151	
OOSTERSCHELDE								
Yerseke	132	73	151	66	89		103	
Wemeldinge	168	111-122	282	91	135		138	
Sas v. Goes	168	103	214	84-92	106		100	
Wissenkerke	149	89	94	88	105		96	
Colijnsplaat	—	156	200	89	126		219	
Zierikzee	132	131	172	103	143		128	
Dortsman					90		109	
Hammen					86		80	
Bruinisse	134	102	152	163	117		123	
KUST								
Hoek v. Holland	142	129	132	88	40		116	
Scheveningen	170	179	159	79	125		165	
IJmuiden	195	135	124-149	94	117		208	
Petten	201	167	148	110	146-154		197	
Huisduinen	176	160-144	143	85	171		203	
Den Helder	179	123	128	92	163		163	
W. WADDENZEE								
Prins Hendrikpolder	177	104	147	79	133		—	
Oudeschild	237	104	92	89	135		—	
De Cocksdorp	181	152	160	131	187		210	
Westerland	—	122	152-128	84	+93		109	197
Den Oever	126	102	179	94	111		119	—
Breezanddijk	149	149	175	103	155		126	167-213
Kornwerderzand	160	151	264	130	163		143-145	—
Harlingen	169	99	119	75-83	125-101		110	129
O. WADDENZEE								
Holwerd	146	84-94	102	94	106		82	114
Lauersoog West	115	99	82	101	85		62	—
Lauersoog	163	74	108	110	99		97	106
Dam 42	81	122	113-112	53	78		106	119
Pijpmond Hoogkerk	85	99	91	120	96		116	131
EEMS-DOLLARD								
Nieuwstad	390	218	214	250 217	241	218	239	399
Nansum	—	295	403	372 321	402	402	488	177
Oterdum	587	198	321	294 239	257	208-217	206	

middelste asvrij drooggewicht (= hoeveelheid organische stof) per mossel. Bovendien werd het kwikgehalte bepaald d.m.v. aktiveringsanalyse.

Resultaten

De verkregen resultaten zullen apart behandeld worden voor de verschillende grootteklassen mosselen, maandelijks bemonsterd op het Balgzand, en de 3-3½ cm grote mosselen van de overige Nederlandse kust.

A. Balgzand

De kwikgehalten van de mosselen zijn gegeven in fig. 3. Daaruit blijkt dat in de periode maart-april het kwikgehalte van de mosselen snel afneemt, terwijl het asvrij drooggewicht van de mosselen vrijwel konstant blijft (fig. 4). Hoewel van mei tot september zeer sterke variaties optreden in de gevonden kwikgehalten, is de algemene tendens toch een lichte daling, terwijl van september tot het eind van het jaar het kwikgehalte weer toeneemt.

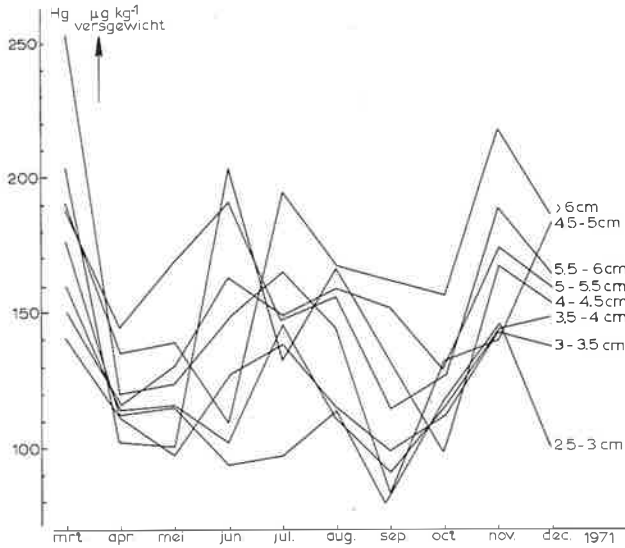


Fig. 3. De veranderingen gedurende het jaar in het kwikgehalte voor mosselen van verschillende grootteklassen op het Balgzand bij Den Helder.

Changes in the mercury content, in the course of one year, of mussels of various size groups from the Balgzand, near Den Helder.

Hg $\mu\text{g}/\text{kg}^{-1}$ versgewicht.
Hg in $\mu\text{g}/\text{kg}^{-1}$ of fresh weight.

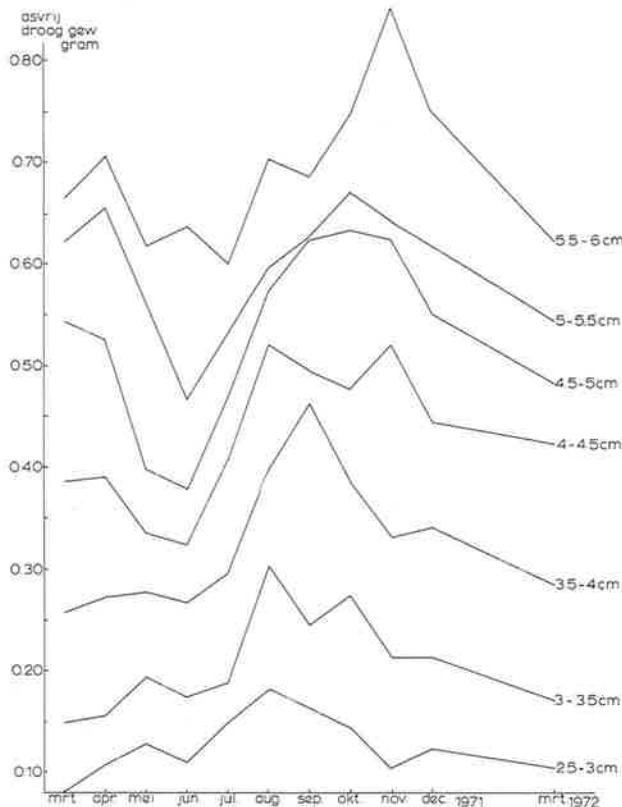


Fig. 4. Asvrije droog gewichten van mosselen van verschillende grootteklasse op het Balgzand bij Den Helder.

Ash-free dry weight of mussels of various size groups from the Balgzand, near Den Helder.

Asvrij droog gewicht gram.
Ash-free dry weight grammes.

De snelle afname van het kwikgehalte in het voorjaar suggereert dat een deel van het kwik het lichaam met de geslachtsprodukten zou verlaten. Zoals eerder aangegeven variëren behalve het kwikgehalte ook het drooggewicht, het asvrij drooggewicht en het asgewicht per mossel. Omrekenen van het kwikgehalte op basis van het versgewicht naar waarden betrokken op drooggewicht of asvrij drooggewicht verkleinen de grote variaties echter niet, terwijl het op grond van de asgewichten per mossel ook onwaarschijnlijk lijkt dat deze de grote fluktuaties kunnen verklaren.

Hoe het ook zij, de kwikgehalten verkregen op het Balgzand tonen aan dat er, ondanks voorzorgen ten aanzien van representatieve monstergrootte etc., onbegrepen en tamelijk grote variaties kunnen optreden.

B. Nederlandse kust

In tabel I staan de kwikgehalten, betrokken op versgewicht van homogenaten, van telkens 100 mosselen van 3-3½ cm van een groot aantal plaatsen langs de Nederlandse kust. Ook hier is het duidelijk dat er, per monsterplaats, nogal aanzienlijke wisselingen in kwikgehalten kunnen voorkomen. Toch is er ook hier wel enig patroon in de getallen te ontdekken. Zo is het duidelijk dat ook in deze gevallen er een afname van het kwikgehalte is in de periode van maart tot september, terwijl van september tot maart de gehalten weer toenemen, hoewel dat voor individuele monsterplaatsen niet steeds duidelijk is.

Evenals eerder op het Balgzand worden ook hier de optredende variaties niet kleiner als de kwikgehalten betrokken worden op drooggewicht of asvrij drooggewicht. De betrekkelijk grote verschillen tussen op korte afstand van elkaar gelegen monsterpunten (zie b.v. de monsterpunten Borssele en Sloehaven in november 1971) doen vermoeden dat nog niet onderkende factoren in de stofwisseling van de mosselen van belang kunnen zijn bij het tot stand komen van de kwikgehalten. Naar aanleiding van de verschillen in kwikgehalte tussen individuele monsterplaatsen werd het gemiddelde kwikgehalte voor wat grotere gebieden berekend (tabel II). Er wordt dan duidelijk dat voor de gehele Nederlandse kust geldt, wat hierboven voor het Balgzand werd aangegeven: een afneming van het kwikgehalte in de periode maart-mei, toeneming tot juli, afneming tot september en vervolgens een toeneming van het gehalte tot maart. Dan blijkt ook dat in deze grotere gebieden enig onderscheid gemaakt kan worden op basis van de kwikgehalten; in de oostelijke Waddenzee, van Holwerd tot Rottum, zijn de kwikgehalten van mosselvlees systematisch laag, terwijl de gehalten in het Eems-Dollard estuarium steeds zeer hoog zijn. De overige gebieden: Westerschelde, Oosterschelde, westkust en westelijke Waddenzee nemen een positie in tus-

Tabel II. Hg gehalte in vers mosselvlees, berekend uit de gehalten voor een aantal monsters van 100 mosselen ieder, verzameld op verschillende plaatsen in het aangegeven gebied (afgeleid uit Tabel I)

Table II. Mercury content of fresh soft parts of mussels, calculated from the contents of a number of samples of 100 musels each, collected from different sites in the areas indicated

Totaal Hg in ppb	maart	mei	juli	sept.	nov.	dec.	jan.	febr.
Westerschelde	132	141	154	112	130		180	
Oosterschelde	147	110	166	97	110		121	
Kust	177	148	140	98	130		175	
Westelijke Waddenzee	171	122	157	96	133		137	176
Oostelijke Waddenze	118	95	101	89	92		92	117
Eems-Dollard	488	237	312	305	259	300	261	311

duidelijk als de kwikgehalten omgerekend worden naar het aantal nanogrammen kwik per mossel (fig. 5). Dan blijkt tevens dat de aanvankelijke verandering in het gehalte (afneming maart-mei bij vrijwel konstant asvrij drooggewicht, toeneming mei-juli en afneming juli-september) toegeschreven moet worden aan de veranderingen in het asvrij drooggewicht, aangezien de hoeveelheid kwik per mossel in de periode maart tot september vrijwel overal continu afneemt.

C. Invloed van het slib

In verband met de eerder gesignaleerde veranderingen in het asgehalte van mosselen, en het feit dat in zeewater gesuspendeerd materiaal (slib) wisselende hoeveelheden Hg kan bevatten (de Goey c.s. 1971) is het interessant te onderzoeken in hoeverre het door de mossel uit het zeewater gefiltreerde slib (in darmkanaal, op de kieuwen en in de pseudofaeces) de hier gevonden verschillen kan verklaren. Daartoe zijn in fig. 6 de hoeveelheden as (d.i. ten dele slib en ten dele lichaamsas) per mossel gegeven.

Hoewel op het eerste gezicht enig verband lijkt te bestaan met de hoeveelheid kwik per mossel blijkt bij variantie-analyse dat dit verband in ieder geval niet significant is. De mogelijkheid bestaat dat de kwikgehalten van de mosselen toch verklaard kunnen worden door aan slib gebonden kwik als het in verschillende gebieden in het water aanwezige en door de mossel opgenomen slib korrelgrootte verschillen zou vertonen. Aangezien de korrelgrootte van in mosselen aanwezig slib (= as) echter experimenteel niet bepaald kan worden, kan hierover geen uitspraak worden gedaan. Tegen de hypothese spreekt echter het feit dat mosselen een zeer effectief filtermechanisme bezitten, en de overweging, dat in gebieden waar het fijnste slib aanwezig is (oostelijke Waddenzee), met verreweg het grootste oppervlak, waaraan Hg-ionen zich kunnen hechten, ook de laagste Hg gehalten in mosselen voorkomen, terwijl het gemiddelde asgewicht per mossel zeker niet het laagst is (fig. 6). Dit probleem verdient echter nader onderzoek, evenals de

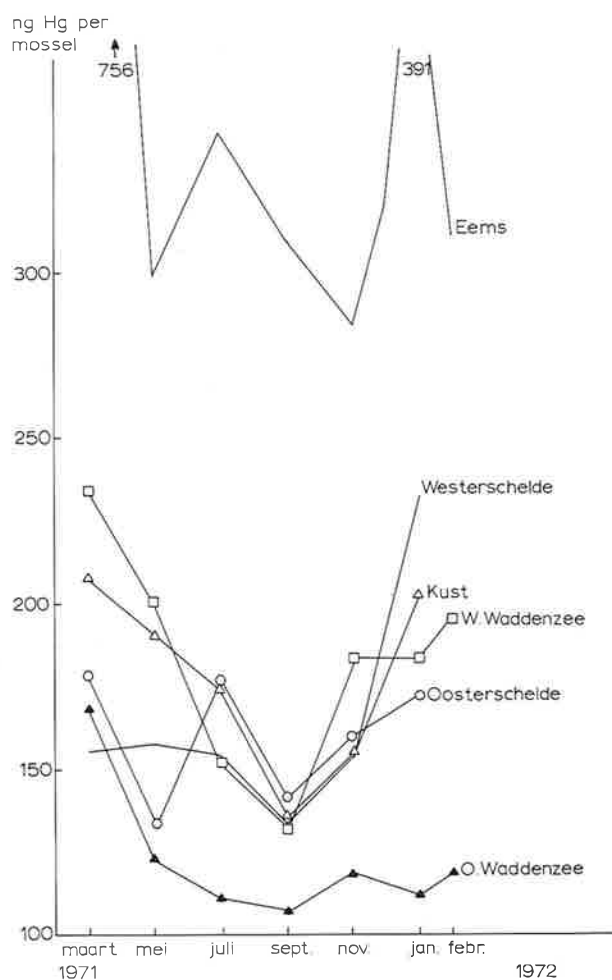


Fig. 5. Verloop van de hoeveelheid kwik per mossel voor verschillende gebieden in de periode maart 1971 - februari 1972.

Changes with time of the mercury content of mussels from different areas March 1971 - February 1972.

ng Hg per mussel.
ng Hg per mussel.

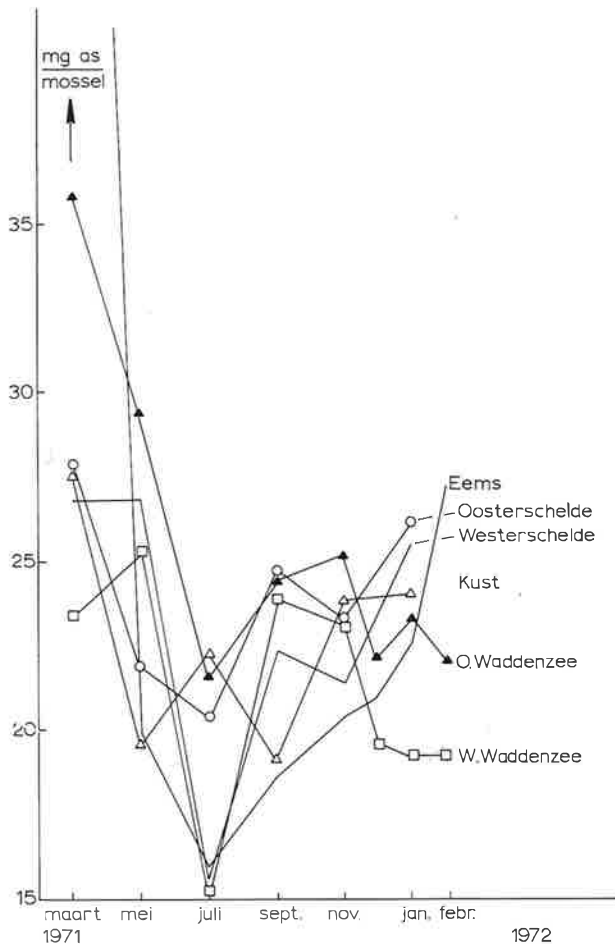


Fig. 6. Verloop van de hoeveelheid as per mossel voor verschillende gebieden in de periode maart 1971 - februari 1972.

Changes with time of ash content of mussels from different areas. March 1971 - February 1972.

mg as mg ash
mossel mussel

vraag wat de ecologische betekenis is van aan slib gehecht Hg, als het in de mossel aanwezig is.

D. Plaatsgebonden verschillen

Ten aanzien van de onregelmatigheid van het Hg gehalte op individuele monsterpunten (tabel I) kan nog het volgende opgemerkt worden. Op ongeregelde tijden zijn van een aantal plaatsen mosselmonsters van onder de getijzone verzameld. Dit betreft in de eerste plaats de monsterplaatsen Dortsman en Hammen (tabel I) waar de gehalten in november duidelijk lager zijn dan op de overige plaatsen langs de Oosterschelde, en ten tweede de in tabel III genoemde plaatsen. Ook hier zijn de gehalten steeds duidelijk aan de lage kant.

Als hypothese kan gesteld worden, dat er ten aanzien van kwik duidelijke metabolische verschillen zijn tussen dieren van een verschillend getijderegime, en mogelijk ook tussen dieren van de verschillende plaatsen van het meetnet. Meer in het alge-

Tabel III. Kwikgehalten van steeds onder water levende mosselen

Table III. Mercury content of continuously submerged mussels

Plaats	Tijd	ppb Hg
Vogelzand (westelijke Waddenzee)	maart	137
IJmuiden (boei)	maart	157
Schulpengat Den Helder	december	106
Eems	november	146

meen kan dit het geval zijn voor iedere algemeen voorkomende soort, die dankzij zijn adaptief vermogen aan verschillende omstandigheden juist zo algemeen voorkomend kan zijn. Voor een meetnet is echter het algemeen voorkomen van de soort een eerste vereiste, en de genoemde variatie is dan inherent aan het meetnet.

E. De vervuilingssituatie

Het is interessant de gevonden kwikgehalten te vergelijken met die van enkele mosselmonsters van andere, buiten Nederland, gelegen plaatsen. Zo was het gehalte van mosselen van een boei op 25 mijl ten westen van IJmuiden (liggende in het zogenaamde Kanaalwater) 25-34 ppb, op de Hebriden 32-38 ppb, en in Dublin 20 ppb. Hieruit moet geconcludeerd worden dat de gehele Nederlandse kust met kwik is vervuild; de mogelijkheid kan echter niet uitgesloten worden dat met het Rijnslib steeds een zekere hoeveelheid Hg werd afgevoerd. In dit verband is het jammer dat geen voor analyse geschikte mosselen van b.v. voor 1900 ter beschikking zijn.

Hoewel lokale variaties in kwikgehalten tamelijk groot zijn, en op het ogenblik niet verklaard kunnen worden, moet geconcludeerd worden dat het mogelijk is gebleken met behulp van het meetnet een industriële vervuiling zoals bestaande in het Eems-Dollard estuarium, aan te tonen.

Tenslotte moet erop gewezen worden dat het niet bekend is wat het effect is, zowel fysiologisch als ecologisch, van de in de mosselen gevonden gehalten. Hoewel verwacht werd dat een effect gevonden zou kunnen worden, b.v. in productie van mosselvlees (gemeten als asvrij drooggewicht) blijkt de variatie in deze en dergelijke grootheden zo aanzienlijk te zijn, dat een eventueel effect van de aanwezigheid van zware metalen verloren gaat in die variatie. Experimenteel werk, zowel in het laboratorium als in het veld, lijkt de aangewezen weg om deze effecten te bepalen (zie de desbetreffende artikelen van *De Wolf c.s.* en *Adema c.s.* in dit nummer van TNO-Nieuws).

Dankwoord

Graag wil ik enkele personen en instellingen bedanken voor hulp bij het verzamelen van de mosselen van dit onderzoek. Dit zijn

(Slot op bladzijde 511)

Het belang van koper voor ons milieu

Een nabeschuwing

Dr. H. J. HUECK

Hoofd afdeling Biologie, Centraal Laboratorium TNO

The importance of copper to our environment - An after-consideration

1. Inleiding

De artikelen in dit „kopernummer” zijn in hoofdzaak gericht op vier punten:

1. De jaarlijkse toevoeging van koper aan het Nederlandse milieu.
2. De koperconcentraties in de Nederlandse wateren.
3. Kopergehalten in planten en dieren.
4. Vergiftigingsverschijnselen die samenhangen met 2 en 3.

Ook de betrouwbaarheid van de metingen als zodanig en met name van de totale indruk die de toch beperkte meetseries leveren, is van groot belang en heeft zijn plaats gekregen in een aantal beschouwingen in deze artikelenreeks.

Alhoewel er nog veel werk gedaan moet worden, beginnen de contouren van het totale beeld zich nu af te tekenen. Hierdoor begint het mogelijk te worden om de kardinale vraag te beantwoorden welke gevaren ons van de kant van koper bedreigen.

Gelukkig hoeven wij ons bij de beantwoording van

deze laatste vraag voor de menselijke gezondheid wat minder zorgen te maken dan b.v. voor kwik. Zoals in de inleidende beschouwing (Hueck T) reeds is uiteengezet, bestaat er bij de mens geen vergelijkbare ziekte door koper als de Minamata ziekte in het geval van kwik. Mogelijkerwijs omdat koper een essentieel sporenelement is bestaat er blijkbaar een goed regulatiemechanisme, zodat ziekteverschijnselen tengevolge van chronische koperbelasting onbekend zijn. De betrekkelijk hoge norm voor de getolereerde hoeveelheid koper in drinkwater namelijk $50 \mu\text{g l}^{-1}$ (Boorsma T, Lageveen-van Kuyk T) hangt hiermee samen, terwijl men zich in de menselijke voeding meer zorgen maakt over de katalyse van oxydatie van voedingsmiddelen dan over de humane toxiciteit (Lageveen-van Kuyk T). Ook acute vergiftigingen zijn niet mogelijk door accidenteel gebruik van water. Zelfs bij de hoogste met zekerheid waargenomen concentratie in het water namelijk die in het Kanaal door Walcheren (Brouwer T) van $200 \mu\text{g l}^{-1}$ zou een zwemmer nog 5000 l (!) water moeten binnenkrijgen om de fatale dosis van 1 g te bereiken. We kunnen ons daarom beperken tot de bedreiging van de omgeving van de mens. De reeds

(Slot van bladzijde 510)

Drs. A. C. Drinkwaard, Mosselproefstation, R.I.V.O., Texel;

Drs. K. Essink, Drs. C. Bakker, Drs. W. J. Wolff en A. Sandee van het Delta-laboratorium te Yerseke en

Drs. P. van Banning van het R.I.V.O. te IJmuiden.

Literatuur

1. Bowen, H. J. M. (1966): Trace elements in Biochemistry. Acad. Press, Lond.
2. Bryan, G. W.: Proc. Roy. Soc. Lond., B177,389.
3. Butterworth, J., P. Lester en G. Nickless (1972): Distribution of Heavy Metals in the Severn Estuary. Mar. Poll. Bull. 3 (5), 72-74.
4. Goey, J. J. M. de, C. Zegers, A. J. de Groot (1971): Kwik in Rijn- en Eemssedimenten. TNO-Nieuws, 26, 378-381.
5. Koeman, J. H. Canton, A. Woudstra, W. H. M. Peeters, J. J. M. de Goey, C. Zegers, J. L. van Haaften (1971): Kwik in het Nederlands kustmilieu. TNO-Nieuws 26 (7), 402-409.
6. Portmann, J. E. (1971): Monitoring Metals in Marine Animals. Mar. Pollut. Bull., 2, 157-158.
7. Prestow, A., D. F. Jefferies, J. R. W. Dutton, B. R. Harvey en A. K. Steele (1972): Environ. Pollut. 3, 69.
8. Williams, C. S. (1969): The effect of Mytilicola intestinalis on the biochemical composition of mussels. J. mar. biol. Ass. U.K. 49, 161-173.
9. Wolf, P. de, (1971): Enkele opmerkingen over het voorkomen van metalen in mosselen langs de Nederlandse kust. Med. Hydrobiol. Ver. 5 (4), 179-180.

bekende gevoeligheid van schapen voor koper (*de Groot en Zschuppe* T en *Lageveen-van Kuyk* T) doet vermoeden dat hier de zaak wel eens anders zou kunnen liggen.

2. Hoeveel koper toegevoegd

In het artikel van *Lageveen-van Kuyk* kan men vinden dat jaarlijks tenminste ongeveer 1600 ton koper aan ons milieu wordt toegevoegd, dat via het grondwater weer uiteindelijk in het estuarium en in de zee terecht komt. Daarnaast is er nog een doorvoer — via de Rijn — van 2900 ton/jaar (in 1970), grotendeels aan slibdeeltjes gebonden.

Het artikel van de *Groot & Zschuppe* T laat er geen twijfel over dat de lotgevallen van dit koper niet eenvoudig te interpreteren zijn. Een groot deel wordt in het estuarium weer gemobiliseerd, en daarna, mogelijk organisch complex gebonden gaat het naar zee. Het slib sedimenteert geleidelijk. Rekening houdend met een reeds van oorsprong niet aan slib gebonden afvoer van koper in de Rijn, geschat op ongeveer 1100 ton, kunnen wij stellen (*de Groot & Fonds*, 1972) dat alleen al de Rijn aan opgelost en gecomplexeed koper ca. 2500 ton koper aan het zeewater toevoegt.

Moelijker nog is het getal van 1600 ton afkomstig van landbouw en industrie te hanteren. Dit getal is zeker te laag omdat bepaalde bronnen nog niet verwerkt zijn wegens onvoldoende gegevens. Ook door het verbranden van steenkolen en olie worden er metalen aan het milieu toegevoegd. Tenslotte zijn er importen en gebruiksartikelen die onbekende (geringe) hoeveelheden koper als verontreiniging bevatten. Zo kan b.v. pyriet, een grondstof in de kunstmestindustrie, enkele promillen koper bevatten welke in de statistiek ontbreken, maar die bij verwerking toch aan het milieu worden toegevoegd. Hoeveel van het industriële en landbouwkoper uiteindelijk het water en daarna de zee bereikt is moeilijk te zeggen. Onderweg zal er wel veel aan grond gebonden worden. Gezien echter de grote mobiliteit van koper in slibhoudend water (*de Groot & Zschuppe* T) lijkt depotvorming toch niet erg waarschijnlijk voor alle op deze manier aan grondwater, riolering en waterwegen toegevoerde koper. Een voorzichtige schatting van Rijn + verbruikskoper dat aan zee wordt toegevoerd lijkt wel minimaal op 3000 ton/jaar gesteld te moeten worden.

Men kan zich nu afvragen waar al dat koper blijft. Het Noordzeewater (ca. 54.000 km³) wordt ongeveer eenmaal in de loop van 2 jaar vervangen door oceanwater. Indien menging met dit Noordzeewater homogeen zou plaats vinden, zou men dus een verdunning van ca. een jaar toevoer met deze hoeveelheid water moeten aannemen. Dit komt neer op een verhoging van de concentratie met minder dan 0,1 µg l⁻¹ wat geheel binnen de waarnemingsfout valt. Het is echter bekend dat van die

homogene verdeling in zee niet veel terecht komt. In feite bestaan er een aantal watermassa's die zeer langzaam met elkaar tot uitwisseling komen. Zo is de afvoer van de Rijn (70 km³ per jaar) te vervolgen als een stroom langs onze kust waarvan de inhoud op ca. 600 km³ gesteld kan worden. De afgevoerde hoeveelheid van 3000 ton koper zou afhankelijk van de uitwisselingstijden hier wel een meetbare verhoging moeten geven. Of dit het geval is, wordt gezien in het volgende hoofdstuk.

3. Koperconcentraties in het water

Het artikel van *Brouwer & Van Hooven* T geeft enige momentopnamen van het voorkomen van koper in onze waterwegen. Hieruit blijkt, dat de koperconcentraties plaatselijk nogal kunnen verschillen. Men krijgt de indruk dat een concentratie tussen 10 en 20 µg l⁻¹ in onze binnenwateren een veel voorkomende en wellicht „normale” toestand is. Deze concentraties vindt men tenminste ook op plaatsen waar men niet direct aan vervuiling denkt.

Enkele uitschieters zijn opmerkelijk. Deze zijn sterk plaatselijk en tijdelijk bepaald zoals de Waal in mei 1971 maar niet in december 1970 en de onderstreepte uitschieters (loc. cit.). Het Kanaal door Walcheren valt op. Hier lijkt een bepaalde bron van vervuiling wel erg waarschijnlijk.

De gegevens over zeewater zijn in dit kopernummer niet goed vertegenwoordigd. Uit het literatuuroverzicht van *Hueck-van der Plas* T blijkt dat oppervlaktewater uit onze oceanen gewoonlijk 1-3 µg l⁻¹ koper bevat. *Roskam* (1970) citeert een waarde van 3 µg l⁻¹. Men neemt aan dat dit kopergehalte bepaald wordt door geochemische evenwichten. Ons laboratorium beschikt over enige nog niet gepubliceerde waarnemingsreeksen van *Adema* bij Wemeldinge en tussen Haringvliet en Hoek van Holland en van *Stam* op het Balgzand bij Den Helder. Het gaat hier over kustwater. Enkele gegevens zijn samengebracht in tabel 1.

Tabel 1. Koperconcentraties in kustwater (µg l⁻¹)
Copper concentrations in coastal water (µg l⁻¹)

Plaats	Periode	Gem.	Uiterste waarden
Wemeldinge (Oosterschelde)	aug. 1971-jan. 1972	6	2 - 12
Kop van Voorne	dec. 1970	12	10 - 14
Balgzand (Den Helder)	juni-aug. 1971	9	3 - 15

Een variantie-analyse leerde dat de werkelijke waarden met 95% waarschijnlijkheid binnen ± 2 µg l⁻¹ van het gemiddelde liggen. Het bleek tevens dat verschillende monsterplaatsen en tijden significante verschillen vertoonden. Op grond van deze gegevens krijgt men de indruk dat ons kustwater inderdaad, vergeleken met oceanwater, een enig-

zins verhoogd kopergehalte heeft dat echter geenszins constant aanwezig is. Er doen zich flinke fluctuaties voor in plaats en tijd. Of dit uitsluitend op grond van de Rijnafvoer verklaard moet worden, valt met behulp van deze gegevens niet uit te maken. Wel lijkt het dat de totale afvoer van koper van het land af de verhoogde koperconcentratie in ons kustwater in stand houdt. Over lange perioden gerekend, moet er dus toch een overmaat koper aan de wereldzee zijn toegevoerd, omdat de Rijn ook zonder vervuiling koper zou aanvoeren. Het is in dit verband misschien niet zonder betekenis dat enkele literatuurplaatsen (*Hueck-van der Plas* T) er op duiden dat de diepere waterlagen in zee naar verhouding meer koper bevatten. Men kan hier denken aan bezinking van koper gebonden aan dierlijke resten en aan slib.

Het verschil in koperconcentratie tussen zoet water en zeewater is aannemelijk na kennismaking van de artikelen van *Van Duin* T en *De Groot & Zschuppe* T. De totaal andere samenstelling van deze watersoorten maakt het hoogst onwaarschijnlijk dat de evenwichtsconcentraties zo deze al aanwezig zijn, hier gelijk zouden zijn.

Indien het kustwater een lichtelijk verhoogde concentratie aan koper bevat, kan men zich afvragen of dit terug te vinden is in de kopergehalten van daarin levende dieren. Hierover gaat de volgende paragraaf.

4. Kopergehalten in organismen

Door het niet tijdig gereed komen van de gegevens voor koper uit ons meetnet beschikken we hier slechts over incidentele bepalingen. Daar zij echter met de schaarse gegevens uit de literatuur overeenstemmen, worden ze hier toch vermeld. Tevens bleek uit het experimentele onderzoek (*Adema* T, *Vink* T, *De Wolf* T) welke gehalten correleren met verhoogde koperconcentraties in het water. In tabel 2 worden deze gegevens samengevat.

De grote onzekerheden in dit soort bepalingen (variëaties te wijten aan monsternamen en analysemethoden) laten momenteel niet toe te constateren of op dit ogenblik in het buitenwater verhoogde gehalten aan koper in waterdieren optreden. Uit het werk van *Adema* T, *De Wolf* T en *Vink* T blijkt echter wel dat er een redelijk lineair verband bestaat tussen de koperconcentratie in het water en het kopergehalte in de enkele onderzochte waterdieren. Van belang is hierbij dat de marge tussen enerzijds het „normale” gehalte, dat wil zeggen, het gehalte waarbij de onderzoekers geen toxische verschijnselen opmerkten, en anderzijds het gehalte dat gepaard gaat met sterfte, zeer gering is. Van belang is dan tevens bij welke concentratie in het water die mortaliteit optreedt. Hoewel de gehalten in het lichaam van de organismen waarbij mortaliteit optreedt (het letale niveau) merkwaardig gelijk zijn bij de onderzochte organismen treedt dit geenszins op bij dezelfde concentratie in het water. Hierover gaat de volgende paragraaf.

5. Welke concentratie koper in het water is toxisch?

Uit het literatuuroverzicht van *Hueck-van der Plas* T blijkt welke variaties in resultaten in de loop der tijden geboekt zijn. Dit is het gevolg van verschillende gevoeligheid van de organismen en vooral van verschillende toetsmethoden. Reeds in het inleidende artikel is betoogd dat voor milieutoxicologische doeleinden eigenlijk niet kan worden volstaan met kortdurende proeven, dat wil zeggen een proefduur die kort is vergeleken met de generatieduur van het proeforganisme. De proeven met mosselen van *Adema* T en *De Wolf* T laten er geen enkele twijfel aan bestaan dat een proefduur van enige dagen hier zinloos zou zijn. In het bijzonder bij de lagere getoetste concentraties treedt sterfte pas na enkele weken op. Het is zelfs de vraag of onze standaardproefduur van een maand

Tabel 2. Kopergehalte (mg kg^{-1} drooggewicht) in enkele organismen
Copper content (mg kg^{-1} dry weight) of some organisms

Organisme	In buitenwater	Experimenteel	
		bij „normale” koperconcentratie in water ¹⁾	bij letale koperconcentratie in water
Watervlo (<i>Daphnia magna</i>)	ca. 30	45	80-100
Mossel (<i>Mytilus edulis</i>)	7-15	20-25	50-90
Vis (<i>Lebistes reticulatus</i>)	—	ca. 30	ca. 110
Vis (<i>Pleuronectus platessa</i>)	1,3-6,7	—	—

¹⁾ Zoals in het artikel van *Adema* T is opgemerkt, bevat in ons laboratorium het leidingwater maar ook het normale aqua dest reeds een vrij hoog gehalte koper.

Tabel 3. Toxiciteit van koper ($\mu\text{g l}^{-1}$) voor verschillende organismengroepen
 Toxicity of copper ($\mu\text{g l}^{-1}$) towards different groups of organisms

Organismen	Ondergrens toxische verschijnselen	Verhoogde mortaliteit	Opmerkingen
groene algen	ca. 100	300 (100-600)	Literatuur algistase of 100% groeiremming
Daphnia	10	17	Adema T
Mosselen	10	20	Adema T, de Wolf T
Vissen (verschillende soorten)	15-600	30-800	Literatuur, Vink T voornamelijk doorstroomproeven van lange duur

Tussen haakjes is de „range” gegeven.

in het laboratorium wel voldoende is. Het veldonderzoek duurt 3-4 maanden. Een Amerikaans onderzoek over meerdere maanden (*Hueck-van der Plas T*) lijkt dan ook betrouwbaarder voor b.v. vissen. In het geval van algen en copepoden met hun korte generatieduur lijken kortere tijden b.v. één of enkele weken nog wel te verantwoorden.

Zowel uit de hier verzamelde gegevens als uit de literatuur blijkt dat groei en reproductie gevoeliger criteria zijn dan mortaliteit. Dit laatste criterium ontleent zijn populariteit vooral aan het feit dat het zo gemakkelijk in getallen is vast te leggen. Ecologisch zijn groei en reproductie echter weinig minder belangrijke uitingen van de delen van een ecosysteem. Merkwaardige verschijnselen als het „gapan” van mosselen en de onthechting van bysusdraden zijn van groot belang, maar moeilijk te kwantificeren (*De Wolf T*). Vervolgens zal men moeten beseffen dat toxiciteitsgrenzen nooit exacte waarden zijn. Het zijn in principe „stochastische” grootheden omdat ze aan populaties bepaald worden (en aan andere populaties opgelegd worden) die noodzakelijkerwijze een eigen variabiliteit vertonen. Tevens, zoals zo duidelijk blijkt uit het artikel van *Meijer T*, zijn deze toxiciteitsgrenzen sterk afhankelijk van secundaire factoren zoals aanwezigheid van voedingszouten, voedsel, complexvormers met koperionen etc. Tenslotte blijkt uit het artikel van *Van Duin T* en de biologische waarnemingen van *Adema T* dat het onjuist is alle „koper” als gelijkwaardig te beschouwen. De experimentele gegevens in deze artikelenreeks gaan grotendeels over het effect van vers toegediend (= geloosd) koper in ionaire vorm. Deze ionaire vorm gaat allengs in oplosbare en onoplosbare complexen over. Dit is echter geen vlotte reactie. „Verouderd” water heeft hierdoor een kleine koper-toxiciteit dan vers toebereid water. Het geheel is niet zonder consequenties voor de beoordeling van koper als milieuvergift. De gevonden gegevens zal men vooral toepasbaar moeten denken op zogenaamde puntlozingen waar b.v. vanwege een fabricageproces steeds vers koperhoudend water wordt geloosd. Dit in tegenstelling tot de permanent ho-

ge koperconcentraties zoals b.v. in drinkwater en in de Waddenzee.

Onder al dit voorbehoud zijn in tabel 3 enkele toxiciteitsindicaties verzameld.

Autoriteiten op dit gebied als *Steeman Nielsen* en *Sprague* leggen de ondergrens van toxiciteit van vers toegediend koper bij resp. 1 en 2 $\mu\text{g/l}$. Zoals uit de analytisch chemische artikelen kan blijken (*Brouwer T*, *Pries T*, *Houpt T*) liggen in dit gebied grote moeilijkheden van analytische aard. Het nauwkeurig vaststellen van deze lage concentraties is geen sinecure. In onze laboratoriumpraktijk bleek dat wij pas na driemaal destilleren in een kwartsapparatuur koperconcentraties onder 2 $\mu\text{g/l}$ kunnen bereiken. Een tolerantiegrens lager dan 10 $\mu\text{g l}^{-1}$ is dus misschien wel mogelijk maar moet met enige voorzichtigheid gehanteerd worden. Men dient wel te beseffen dat hier door de analytische chemie reeds een „tour de force” wordt geleverd indien men, zoals dit bij de autoanalyzer het geval is, honderden bepalingen per dag in monsters ter grootte van 4 ml op het niveau van enkele $\mu\text{g l}^{-1}$ kan doen¹⁾.

Opvallend in tabel 3 is dat groene algen de minst gevoelige zijn van de organismengroepen die onderzocht zijn. Dit is in tegenspraak met het gebruik van koperzouten als algicide. Men doet hiermee duidelijk veel schade aan andere waterdieren indien men het in buitenwater gebruikt. In drinkwaterbassins en zwembaden ligt de zaak natuurlijk wel iets anders.

Het is wel duidelijk dat de nieuwere gegevens de tolerantiegrens voor koper een aanzienlijk stuk naar beneden hebben gebracht. Het handboek van *Liebmann* (1960) geeft als toxiciteitsgrens nog voor zoetwatervis 80-800 $\mu\text{g l}^{-1}$ en voor de overige waterdieren 80-10.000 $\mu\text{g l}^{-1}$. *Zijlstra* (1966) legt de grens op grond van literatuurgegevens bij 80-800

¹⁾ $\mu\text{l} = 1 \text{ gram}/10^6 \text{ l} = 1 \text{ gram per } 1000 \text{ ton water}$
 d.w.z. dit is 1 gram koper opgelost in het ruim van een flinke kustvaarder of een fiks zwembad ($2 \times 20 \times 25 \text{ m}$).

$\mu\text{g l}^{-1}$ voor zoetwatervis en voor diverse waterdieren bij 100-8000 $\mu\text{g l}^{-1}$. De criteria gesteld door een „Commissie, ingesteld door de met afvalwaterzuivering belaste waterschappen” adviseert op grond van schade aan rioolwaterzuiveringsinstallaties een maximum concentratie van 1000 $\mu\text{g l}^{-1}$ aan te houden voor afvalwaterzuivering. Deze concentraties moeten als dodelijk voor enkele zoöplanktonen en bentonische organismen beschouwd worden. De structuur van het gehele ecosysteem zal hierdoor beïnvloed worden, zodat een aanzienlijk lagere tolerantiegrens gewenst lijkt.

Men kan zich nog afvragen hoe groot de toxiciteit van koper wel is vergeleken met die van kwik, waarover zoveel besproken is de laatste tijd. Men komt dan tot de conclusie dat koper, op gewichtsbasis berekend, voor sommige koudbloedige organismen ca 3-5 maal minder giftig is dan kwik. Dit is een zelfde verhouding als die voor de acute giftigheid bij ratten (zie inleidend artikel) wordt gevonden. Uit ongepubliceerde gegevens van *Adema* en *De Wolf* kunnen de volgende vergelijkende gegevens, bepaald met identieke methodiek, gegeven worden (tabel 4).

Tabel 4. Vergelijkende toxiciteit van koper en kwik ($\mu\text{g l}^{-1}$)

Organisme	Kwik	Koper	$\frac{\text{Koper}}{\text{Kwik}}$
Gammariden	20	90	ca. 4,5
Daphnia	3-5	10-17	ca. 3,5
Mosselen	3	10	ca. 3,5

Deze vergelijking is echter op gewichtsbasis. Het atoomgewicht van kwik is evenwel 201 en van koper 63, zodat men de verhoudingscijfers met een factor $201/63 = 3,2$ moet vermenigvuldigen. Per

atoom is dus koper 10-15 maal minder giftig dan kwik. Het grote verschil is echter dat koper tevens een essentieel element is. Een (hypothetisch) totaal verbod van koper zoals voor kwik wordt voorgestaan zou dan ook voor landbouw en veeteelt funeste gevolgen hebben, terwijl ook te bezien valt of niet nog meer organismen een onderste grens vergen om koperdeficiëntie te voorkomen. De moeilijkheden van koper als milieuprobleem liggen klaarblijkelijk in de geringe marge die er bestaat tussen de noodzakelijke aanwezigheid van koper en de geringe tolerantie voor vers geloosd koper. Een controle op geloosd koper lijkt dus wel nodig. Daar het koper in verouderd water minder giftig is dan in vers geloosd zou de remedie kunnen liggen in het verouderen van het geloosde water in spaarbekkens.

Het effluent van het spaarbekken zou onder biologisch-analytische controle moeten staan (b.v. met de gemakkelijke en gevoelige *Daphnia magna*) daar vooralsnog een eenvoudige chemische controle (die onderscheid maakt tussen biologisch-wel en biologisch-minder-actief koper) voorlopig niet voorhanden lijkt.

Literatuur

De aangehaalde literatuur, behalve de twee hieronder geciteerde artikelen, is te vinden in de literatuurlijsten van de voorafgaande artikelen van Hueck en mevr. Hueck-van der Plas.

De literatuurverwijzingen aangeduid met T hebben betrekking op de desbetreffende artikelen in het kopernummer van TNO-Nieuws, waarvan het onderhavige artikel de slotbeschouwing is.

Anonymus (1972): Metaalinstituut TNO stelt normen voor afvalwaterzuivering.

De Ingenieur 84 (9), A 187.

De Groot, A. J. & A. W. Fonds (1972): Gedrag van zware metalen en insecticiden in het oppervlaktewater.

1. Voorkomen en gedrag van zware metalen in de Nederlandse delta.

De Ingenieur 84 (11) G19-G23

SUMMARY AND CONCLUSIONS

1. At least 1600 tons of copper are added yearly in the Netherlands to the 2900 tons which are carried into our country by the Rhine.
2. The coastal waters possibly contain slightly more copper ($6-9 \mu\text{g l}^{-1}$) than the water of the ocean (approx. $3 \mu\text{g l}^{-1}$). The concentration in the coastal waters shows considerable fluctuations locally and temporarily ($2-15 \mu\text{g l}^{-1}$).
3. The inland waters usually contain $10-20 \mu\text{g l}^{-1}$ copper, but locally higher concentrations can be found. The Channel through Walcheren shows a notably high concentration.
4. The few data available on the copper contents of organisms in the field do not allow conclusions to be made on the copper stress.
5. It has been experimentally shown that the copper contents of organisms show a virtually linear correlation with the copper concentration of the surrounding water.
6. A content of about 100 mg/kg dry weight proved to be fatal for the daphnia, the mussel and a fish species (guppy). The margin relative to the naturally occurring copper contents appears to be small.
7. The toxicity of fresh effluents (containing ionic copper) appears to be higher than that of aged effluents. The tolerance limit has to be put at approximately $10 \mu\text{g l}^{-1}$ for a number of organisms. The intrinsic toxicity of copper towards some organisms calculated on a 3-5 times basis appears to be weight for weight less than that of mercury.
8. Neither chronic poisoning of man nor acute poisoning through ingestion of surface water need be feared.
9. For many organisms copper is an essential nutrient. Therefore a minimum concentration in food or environment is necessary for many organisms (cultivated plants, sheep) in order to prevent symptoms of deficiency.
10. The environmental problems related to copper are caused by the narrow margin between the essential and the toxic concentrations.
11. Point drains of copper in ionic form should be prevented. It is pointed out that the toxicity of effluents may be decreased by ageing in ponds or lagoons.
12. It is recommended to monitor copper containing effluents with a simple biological test (e.g. using *daphnia magna*), as it is as yet impossible to determine the biological activity through chemical analytical techniques.