

Business Park E.T.V.
Laan van Westenenk 501
Postbus 342
7500 AH Apeldoorn

www.mep.tno.nl

T 055 549 34 93
F 055 549 32 01
info@mep.tno.nl

TNO-rapport

R 90/101

**De invloed van 50 prioritaire stoffen op de groei
van *Lactuca sativa* (sla)**

Datum	22-05-1990
Auteurs	D.M.M. Adema L. Henzen
Projectnummer	21003
Trefwoorden	
Bestemd voor	Ministerie van Volkshuisvesting, Ruimtelijk Ordening en Milieubeheer

Alle rechten voorbehouden.

Niets uit deze uitgave mag worden vermenigvuldigd en/of openbaar gemaakt door middel van druk, fotokopie, microfilm of op welke andere wijze dan ook zonder voorafgaande toestemming van TNO.

Indien dit rapport in opdracht werd uitgebracht, wordt voor de rechten en verplichtingen van opdrachtgever en opdrachtnemer verwezen naar de Algemene Voorwaarden voor onderzoeksovereenkomsten aan TNO, dan wel de betreffende terzake tussen de partijen gesloten overeenkomst. Het ter inzage geven van het TNO-rapport aan direct belanghebbenden is toegestaan.

© 2001 TNO

INHOUD

	pag.
SAMENVATTING EN CONCLUSIES	3
1. INLEIDING	5
2. MATERIALEN EN METHODEN	6
2.1 Modelstoffen	6
2.2 Plantesoort	6
2.3 Media	6
2.4 Methoden	9
2.5 Criteria, definities en berekeningswijzen	15
3. RESULTATEN EN DISCUSSIE	17
3.1 Chemische analyses	17
3.2 pH-waarden en zuurstofgehalten	21
3.3 Effecten op de planten bij toetsen in grond	31
3.4 Effecten op de planten bij toetsen in voedingsoplossing	41
3.5 Vergelijking van de effecten in grond en voedingsoplossing	54
3.6 Vergelijking van het gehalte aan droge stof van controleplanten en planten met groeiremming	
4. KLASSERING VAN DE STOFFEN	57
5. REFERENTIES	61
BIJLAGE 1	SAMENSTELLING VAN DE LANDBOUWGROND (PARTIJ LG-4)
BIJLAGE 2	SAMENSTELLING VAN DE LANDBOUWGROND (PARTIJ LG-5)
BIJLAGE 3	SAMENSTELLING VAN DE VOEDINGSOPLOSSING VOLGENS STEINER
BIJLAGE 4	RUWE DATA VAN DE PLANTENTOETSEN IN GROND EN VOEDINGSOPLOSSING
BIJLAGE 5	INVLOED VAN LAGE ZUURSTOFGEHALTEN OP DE GROEI VAN DE PLANTEN IN WATERCULTUREN
BIJLAGE 6	DROGESTOFGEHALTEN

SAMENVATTING EN CONCLUSIES

In het kader van de Wet Milieugevaarlijke Stoffen is een onderzoeksprogramma "FYTOTOX 2" opgesteld. Hierin zijn effecten van 76 prioritaire stoffen op planten onderzocht. Het onderzoek is uitgevoerd door TNO en het RIVM. Dit rapport beschrijft het TNO-aandeel in dit programma.

Ecotoxicologische effecten (kieming, groei, sterfte) van 50 organische verbindingen zijn bepaald met sla (*Lactuca sativa*) als toetsplant. De stoffen behoren onder andere tot de chlooranilines, chloor(nitro)benzenen, aromatische alcoholen en andere CHO-verbindingen, koolwaterstoffen, stoffen met een stikstofatoom en enkele kleurstoffen en bestrijdingsmiddelen. De effecten van deze stoffen zijn bepaald in grond (na ca. 1 en ca. 2 weken expositie) en in voedingsoplossing (na ca. 2 weken expositie).

De gehalten aan de stoffen in grond of voedingsoplossing werden zoveel mogelijk bepaald door chemische analyse.

Alle EC50-waarden en andere toxiciteitsparameters zijn berekend op basis van de toegevoegde (nominale) hoeveelheden. Van alle stoffen waarvoor de toegevoegde hoeveelheden vermoedelijk hoger waren dan de vanaf het begin van de toets werkelijk aanwezige, zijn de namen in de tabellen 3 t/m 7 en in Hoofdstuk 4 cursief gedrukt.

Groei was bij de meeste stoffen een gevoeliger criterium dan kieming zowel in grond als in voedingsoplossing.

De geschatte EC50- en NOEC-waarden voor groei waren in grond altijd hoger dan in voedingsoplossing (op basis van toegevoegde hoeveelheden). Oorzaken hiervoor zijn vervluchtiging uit grond reeds bij het doseren en tijdens de expositie, afbraak in de grond en adsorptie van de stoffen aan de grond.

Vluchtige stoffen werden vermoedelijk reeds bij of kort na het doseren gedeeltelijk verloren bij de grondtoetsen. Dit verlies nam vermoedelijk snel toe tijdens de expositie van de planten. Het toetsen van dergelijke stoffen in grond, bijvoorbeeld volgens de OECD Guideline nr. 208, is vermoedelijk weinig zinvol; het toetsen in grond zou beperkt moeten worden tot stoffen die niet gemakkelijk vervluchtigen (b.v. $H < 0.1$).

Het toetsen in voedingsoplossing, waarbij adsorptie, vervluchtigen en afbraak van de stoffen zoveel mogelijk wordt vermeden, levert EC50-waarden op voor groei die goed

correleren met de octanol/water verdelingscoëfficiënten van de stoffen ($r = -0,850$ bepaald voor alle stoffen behalve diaminobenzeen en diaminotolueensulfaat, die relatief toxischer zijn dan "passend" bij hun octanol/watervedelingscoëfficiënt, en de stoffen waarvoor de EC50-waarde in voedingsoplossing niet bereikt werd bij hun oplosbaarheid in water).

Bovengenoemde correlatie was het grootst voor de aromatische fenolen ($r = -0,968$ bij $n = 6$), gevolgd door de chlooranilines ($r = -0,928$ bij $n = 9$), de andere CHO-verbindingen ($r = -0,898$ bij $n = 10$), en de chloor(nitro)benzenen ($r = -0,689$ bij $n = 9$).

De toetsen in voedingsoplossing, zoals hier beschreven, geven een goede indruk van de potentiële fytotoxiciteit van de stoffen. Zij gaan echter voorbij aan de processen die zich in grond kunnen afspelen wanneer de stoffen hierin terecht komen, zoals afbraak en adsorptie. (Het toetsen van vluchtige stoffen wordt buiten beschouwing gelaten.)

Toetsen in grond meten de invloed van dergelijke processen (afbraak en adsorptie) in combinatie met de fytotoxiciteit van de stoffen. Hierbij moet echter bedacht worden dat de samenstelling van de grond deze processen kan beïnvloeden. Tevens zijn toetsen in grond door de gemeten resultante van een aantal effecten moeilijker te interpreteren dan toetsen in voedingsoplossing en is het wellicht moeilijk om hiervoor eenvoudige QSAR's te vinden.

Voor de getoetste stoffen is een klassering gemaakt naar de mate van fytotoxiciteit in grond respectievelijk voedingsoplossing. Een directe vergelijking van de klasseringen voor grond en voedingsoplossing is niet mogelijk, omdat de beschikbaarheid van de stoffen in grond door adsorptie veel lager is dan in voedingsoplossing en omdat in de voedingsoplossing de stofconcentraties zo constant mogelijk werden gehouden tijdens de periode van blootstelling (vervluchting en afbraak werd zoveel mogelijk voorkomen).

1. INLEIDING

Als vervolg op een eerder project betreffende fytotoxiciteit van tien milieugevaarlijke stoffen [1, 2], werd de fytotoxiciteit van 76 stoffen voor de plantesoort *Lactuca sativa* (sla) bepaald.

Het onderzoek werd uitgevoerd in grond en in een voedingsoplossing zonder substraat.

De toetsen werden waar mogelijk uitgevoerd met chemische analyses van het gehalte aan toetsverbinding in het medium.

Het onderzoek is uitgevoerd door RIVM en MT-TNO.

Negentien van de stoffen werden op beide laboratoria onderzocht ter bepaling van de interlaboratorium variatie. Dit onderwerp is behandeld in het RIVM-rapport betreffende dit project [3].

Dit rapport behandelt het TNO-deel van het onderzoek naar de fytotoxiciteit van 50 stoffen.

De stoffen zijn in dit rapport ingedeeld in de volgende groepen: chlooranilines, chloorbenzenen (inclusief chloor-nitro-benzenen), aromatische alcoholen en andere CHO-verbindingen, koolwaterstoffen, kleurstoffen, bestrijdingsmiddelen en (andere) verbindingen met een N-atoom.

2. MATERIALEN EN METHODEN

2.1 Modelstoffen

De modelstoffen werden gekozen door de opdrachtgever en verdeeld tussen beide instituten. De stoffen welke op MT-TNO werden getoetst zijn vermeld in Tabel 1, met een aantal relevante fysisch-chemische eigenschappen [4, 5, 6, 7, 8]. De stoffen die tevens bij het RIVM werden getoetst zijn in de Tabellen 4 en 6 gemerkt met een *.

2.2 Plantesoort

Het onderzoek werd uitgevoerd met één plantesoort, namelijk *Lactuca sativa* L. (sla). De zaden waren afkomstig uit één partij van de firma Rijk Zwaan, De Lier. De zaden werden gedurende het onderzoek in het donker bij 4°C bewaard. De kieming in de controles was > 90% in alle toetsen.

2.3 Media

2.3.1 Grond

Er werden twee partijen grond (LG-4 en LG-5) gebruikt, beide afkomstig van dezelfde plaats namelijk een oude beekbedding, thans een boomgaard, in Heerewaarden.

De specificaties van de partijen zijn gegeven in Bijlagen 1 en 2. De tweede partij (LG-5) bevatte relatief meer fijne delen dan de eerste partij. Daarnaast bleek het gehalte aan fosfor en kalium te laag voor een optimale groei van de slaplantjes in een blanco-situatie. Dit lage gehalte is waarschijnlijk veroorzaakt doordat er, tussen het halen van deze twee partijen, gras heeft gegroeid op deze grond.

Het fosfor- en kaliumgehalte werd daarom verhoogd door per 100 g droge grond 0,160 g K_2HPO_4 door de grond te mengen.

Welke partij grond gebruikt is voor de verschillende stoffen, is aangegeven in Tabel 4.

2.3.2 Voedingsoplossing

Als voedingsoplossing voor de aqua culturen werd de universeel oplossing volgens Steiner [9] gebruikt.

De samenstelling hiervan is gegeven in Bijlage 3.

Tabel 1 Getoetste stoffen (MT-TNO).

Naam stof	Herkomst	Zuiverheid	M	log Po/w	P Pa 20° à 25°C	Sw ²⁾ mg.l ⁻¹	H ³⁾
Chlooranilines							
2-chlooraniline	Aldrich chemie	min. 98%	127,6	1,92	22,6		
3-chlooraniline	Merck	98%	127,6	1,90	7,2		
2,4-dichlooraniline	Aldrich chemie	99%	162,0	2,69	131		
3,4-dichlooraniline	Fluka A.G.	> 97%	162,0	2,69	1,30?	92?	?
3,5-dichlooraniline	Fluka A.G.	> 97%	162,0	2,4 - 2,9	0,13?	692?	?
2,4,5-trichlooraniline	Merck	98%	196,5	3,17			
2,4,6-trichlooraniline	Fluka A.G.	technisch	196,5	3,12	137		
2,3,4,5-tetrachlooraniline	EGA-Chemie	98%	231,0	4,04			
2,3,5,6-tetrachlooraniline	Aldrich chemie	99%	231,0	3,90			
pentachlooraniline	Aldrich chemie	98%	265,4	4,56			
Chloor(nitro)benzenen							
monochloorbenzeen	Merck	> 99%	112,6	2,18 - 2,84	1569	448	0,16
1,4-dichloorbenzeen	Merck	99%	147,0	3,37 - 3,62	1330 ¹⁾	65,3	
1,2,3-trichloorbenzeen	Merck	99%	181,5	4,11	9,3	12	0,06
1,2,4-trichloorbenzeen	Fluka A.G.	≥ 98%	181,5	4,02	38,6	48,8	0,06
1,3,5-trichloorbenzeen	Aldrich chemie	98-99%	181,5	4,26	20,0	5,8	0,25
1,2,3,4-tetrachloorbenzeen	Merck	98%	215,9	4,50		3,5	
1,2,4,5-tetrachloorbenzeen	EGA-Chemie	ca. 99% (Cl)	215,9	4,93		0,30	
pentachloorbenzeen	Merck	98%	250,3	4,9 - 5,7	0,2	0,24	0,09
hexachloorbenzeen	B.D.H.	74,7%	284,8	5,31	0,0015	0,035	4,9.10 ⁻³
1-chloor-2-nitrobenzeen	Aldrich chemie	99%	157,6	2,24			
1-chloor-3-nitrobenzeen	Aldrich chemie	98%	157,6	2,43			
OH-verbindingen (arom.)							
fenol	M & B	> 98,5%	94,1	1,46	46,7	82000	2,2.10 ⁻⁵
o-cresol	Fluka A.G.	puriss. p.a.	108,2	1,95	ca. 30	25000	5,3.10 ⁻⁵
m-cresol	Fluka A.G.	puriss. p.a.	108,2	1,96	20,3	25000	3,6.10 ⁻⁵
2,3,5-trichloorfenol	Fluka A.G.	purum	197,5	3,88		1190	7,1.10 ⁻⁵
pentachloorfenol	Fluka A.G.	puriss.	266,4	5,05	0,013	14	1,0.10 ⁻⁴
β-naftol	Aldrich chemie	99%	144,2	2,63 - 2,84	666	7400	5,2.10 ⁻³

1) bij 54,8°C

2) oplosbaarheid in water

3) constante van Henri (dimensielooos)



Tabel 1 Getoetste stoffen (MT-TNO) (vervolg).

Naam stof	Herkomst	Zuiverheid	M	log Po/w	P Pa	Sw mg.l ⁻¹	H
CHO-verbindingen							
benzaldehyde	Fluka A.G.	purum	106,1	1,48	133?	3300	1,7.10 ⁻³
n-butylacetaat	Merck/Aldrich	beide min. 99%	116,2	1,82	2000	8300	1,0.10 ⁻²
iso-butylalcohol	Merck	voor chromatografie CT	74,1	0,76	1170	100000	3,5.10 ⁻⁴
diethylfitaat	Fluka A.G.	purum/ ca. 98%	222,0	2,47	0,22	1080	1,8.10 ⁻⁵
dibutylfitaat	Fluka A.G.	purum/ > 98%	278,3	4,9	(9,7 ± 3,3). 10 ⁻³	13	0,8.10 ⁻⁴
diethylhexylfitaat	Aldrich chemie	98%	390,5	4,9		0,29	97
furaan	Aldrich chemie	99%	68,1	1,34		10000	
Koolwaterstoffen							
heptaan	Merck	≥ 99%	100,2	4,05	4666	2,7	71
octaan	Sigma	99%	114,2	4,57	1333	0,66	94
decaan	Aldrich chemie	99%	142,3	5,62	1333 ²⁾	0,05	1547
tolueen	Merck	≥ 99,5%	92,1	2,69	4881 ³⁾	525	0,35
naftaleen	M & B	lot nr. 90588 res. 0,05%	128,2	3,01 - 3,59	10	30	1,7.10 ⁻²
bifenyli	Aldrich chemie	> 98%	154,2	3,79		8	
N-verbindingen							
aniline	Merck	99%	93,1	0,90	89	36600	9,2.10 ⁻⁵
acetanilide	EGA-chemie	ca. 98%	135,2	1,16		5630	
pyridine	Baker	p.a.	79,1	0,62 - 0,78	2666	∞	
1,2-diaminobenzeen	Aldrich chemie	99%	108,1	0,15		41500 ¹⁾	
2,5-diaminotoluensulfaat	Aldrich chemie	95%		-5,25		goed	
Kleurstoffen							
rhodamine B	Aldrich chemie	dye content ca. 80%	479,0			goed	
trypaan blauw	Aldrich chemie	dye content ca. 60%	960,8			goed	
Bestrijdingsmiddelen							
azinfosmethyl	Riedel-de Haën	99%	317,3	2,75	10 ⁻⁶	33	3,9.10 ⁻⁹
endosulfan	Riedel-de Haën	99%	407,0		0,0012	0,33	6,0.10 ⁻⁴
triazofos	Riedel-de Haën	80%	313,3			30 - 40	

1) bij 35°C; 2) bij 16,5°C; 3) bij 30°C



2.4 Methoden

2.4.1 Groeltoets in grond

De toets werd in beginsel uitgevoerd volgens de OECD Guideline nr. 208 [10]. Van de grond werd bepaald hoeveel water deze maximaal kon vasthouden; 80% van deze hoeveelheid werd gekozen als vochtgehalte van de grond tijdens de proeven. De grond werd verzameld te Heerewaarden, gezeefd, op een vochtgehalte van ca. 13% gebracht en bewaard in gesloten polyethyleen zakken.

Vlak voor de proef werd het vochtgehalte nauwkeurig bepaald. Een hoeveelheid vochtige grond, equivalent aan ca. 1600 g droge grond, werd gemengd met de gewenste hoeveelheid van de toetsverbinding. Er werden drie methoden gebruikt om de stoffen aan grond toe te voegen:

- a. goed in water oplosbare stoffen werden met zoveel water door de grond gemengd dat zowel het gewenste gehalte aan stof als het gewenste watergehalte bereikt werd (aangegeven in Tabel 3 als "water").
- b. slecht in water oplosbare stoffen, die voldoende oplosbaar waren in aceton werden opgelost in aceton en als oplossing in aceton toegevoegd aan fijn zilverzand. Na verdampen van de aceton werd het zand met grond gemengd (aangegeven in Tabel 3 als "aceton").
- c. stoffen die onvoldoende in water en aceton oplossen werden direct aan zand toegevoegd en hier goed doorheen gemengd met behulp van een mortier, waarna het zand met de stof door de grond werd gemengd (aangegeven in Tabel 3 als "zand").

Vluchtige, slecht in water oplosbare stoffen werden vermoedelijk reeds bij het doseren en mengen gedeeltelijk verloren. De gebruikte doseringsmethode is voor elke stof aangegeven in Tabel 3.

Voor elke concentratie toetsverbinding werd een aparte partij grond aangemaakt waarmee 5 plastic bakjes (gemiddelde diameter 8,8 cm, hoogte 6 cm) gevuld werden. De getoetste concentraties zijn aangegeven in Tabel 3.

Vier bakjes werden ingezaaid en het vijfde werd gebruikt voor chemische analyse van het gehalte aan stof en/of voor pH-metingen bij het begin van de toets. De bakjes werden ingezaaid met ca. 10 zaden en afgedekt met glasplaten. De ruimte tussen de glasplaten en de bovenkant van de grond was ca. 1,5 cm. Ze werden geplaatst bij $23 \pm 3^\circ\text{C}$, 60% relatieve vochtigheid en gedurende 16 h per etmaal belicht met ca. 6500 lux met behulp van TL-buizen, kleur 57. Zodra de zaden gekiemd waren (binnen 2 dagen) en alvorens de jonge plantjes de glasplaten raakten werden deze verwijderd (dit was binnen 4 dagen).

In principe werden de eerste vijf opgekomen kiemplanten gebruikt voor de toetsen en werden de volgende vernietigd; in geval de eerste erg dicht op elkaar stonden werden ook andere gekozen.

Vanaf het moment van het verwijderen van de glasplaten werd elke dag zoveel gedestilleerd water toegevoegd dat het totaal gewicht van het bakje constant bleef. Hierbij werd de gewichtstoename van de groeiende planten verwaarloosd.

Zeven en veertien dagen na kieming werden dia's gemaakt van de planten. Na ongeveer één week werd de helft van de planten geoogst en na ongeveer 2 weken de andere helft. Hiertoe werden de bovengrondse plantedelen afgeknipt en direct gewogen op een balans welke gekoppeld was met een HP 85. Met behulp van een computerprogramma werden het gemiddeld gewicht en de standaardafwijking hierin berekend van de planten behorend bij een groep (maximaal 10; namelijk twee potten per toegepaste concentratie met elk vijf planten), terwijl tevens het aantal gewogen planten werd geregistreerd.

De pH (KCl) van de grond werd bepaald bij bijna alle stoffen, tenmiste voor de controle en de hoogste concentratie bij het begin van de toets. Deze bepaling werd uitgevoerd door het mengen van 50 g grond met 100 ml 0,1 M KCl en dit 1 h te laten staan (waarin enkele malen werd geschud), waarna de pH van de bovenstaande vloeistof op de gebruikelijke wijze werd gemeten.

Het gehalte aan toetsverbinding in de grond werd voor een aantal stoffen bepaald door chemische analyse aan het begin en het einde van de expositie van de planten in de grond, voor enkele van de vijf verschillende concentraties (zie voor specificaties Tabel 2).

Voor de meeste stoffen werd van de controle en van één effect-concentratie het gehalte aan droge stof van de planten aan het einde van de proef bepaald.

2.4.2 Groeitoets in voedingsoplossing

De groeitoets in voedingsoplossing welke voor het eerste onderzoek [1] door TNO ontwikkeld was, werd slechts gebruikt voor het toetsen van 3 van de stoffen.

Veel van de te toetsen stoffen waren vluchtig en/of biologisch afbreekbaar en daarom niet stabiel in water. Om de concentraties zo goed mogelijk constant te houden tijdens de expositie werden de planten 3 x per week in vers bereide oplossingen geplaatst. Voor deze proefopzet waren kleinere proefvaten dan de eerder gebruikte 10 l aquaria nodig en werden vaten met een inhoud van ca. 1,1 l, zogenaamde weckpotten, gebruikt.

Elke concentratie werd in 2 potten met 5 plantjes per pot (= 10 plantjes per concentratie) getoetst.

Goed in water oplosbare stoffen werden direct aan de voedingsoplossing toegevoegd of via geconcentreerde oplossingen in water. Slecht in water oplosbare stoffen werden gedoseerd

via geconcentreerde oplossingen in tertiair butanol (TBA), een slecht afbreekbaar organisch oplosmiddel, terwijl er aan de concentratiereeks tevens een extra controle werd toegevoegd met een gelijke hoeveelheid TBA.

De gebruikte doseringsmethode is voor elke stof aangegeven in Tabel 5.

Enkele slecht in water oplosbare stoffen werden tevens bij de verzadigingsconcentratie (verz.) getoetst. Deze werd bereid door een overmaat stof gedurende ± 24 h intensief te roeren met het medium en dit mengsel (overmaat stof + vermoedelijk verzadigde oplossing) hierna over te brengen in de weckpotten. Na fasescheiding (indien nodig) werden dan de deksels met kiemplantjes op de potten geplaatst.

De kiemplantjes waren van de toetsen in voedingsoplossing afkomstig uit plastic bakjes (dezelfde als die werden gebruikt voor de grondtoetsen), gevuld met perliet (merk: Agra) en met zoveel toetsoplossing dat dit juist geheel werd "opgenomen". Hierin werden de zaden geplaatst om te ontkiemen en te wortelen. De stengels van de nog zeer kleine kiemplantjes werden geplaatst in een glazen buisje ($\varnothing$ 0,55 cm, lengte 3 cm) en hierin vastgezet met een plukje perlonwol. Deze buisjes met aan de bovenkant een rubber ringetje werden vervolgens geplaatst in de deksels van de weckpotten, met daarin 5 gaatjes, passend bij de buisjes. De deksels werden geplaatst op de weckpotten van ca. 1,1 l en bijna geheel gevuld met toetsoplossing (telkens dezelfde als die waarin de plantjes tevoren gekiemd waren in het perliet). De toetsoplossing werd niet belucht. Er werd zorg voor gedragen dat de worteltjes in het water groeiden. De weckpotten waren aan de buitenzijde bekleed met zwart plastic om algengroei in de voedingsoplossing te voorkomen.

De getoetste concentraties zijn aangegeven in Tabel 2.

Deze waterculturen werden geplaatst onder dezelfde condities van temperatuur, vocht en licht als de grondculturen. De planten werden 3 à 4 dagen na kieming (5 dagen na zaaien) overgebracht van perliet naar voedingsoplossing.

Tussen 11 à 14 dagen na kieming werden dia's gemaakt van de planten en 16 dagen na kieming werden de planten geoogst en gewogen zoals beschreven in § 2.4.1 voor de grondculturen. De pH van de voedingsoplossing werd bepaald voor alle stoffen. De concentraties werden zowel direct na bereiding als vlak voor de volgende verversing bepaald.

Het gehalte aan toetsverbinding in de voedingsoplossing werd voor de meeste stoffen bepaald door chemische analyse, bij begin en einde van de expositie van de planten in de voedingsoplossing, voor enkele van de vijf verschillende concentraties.

Het zuurstofgehalte van de voedingsoplossing werd elke maandag, woensdag en vrijdag gemeten vlak voor het verversen van de media.

Voor de meeste stoffen werd van de controle en van één effect-concentratie het gehalte aan droge stof van de planten aan het einde van de proef bepaald.

2.4.3 Chemische analyses

2.4.3.1 Chlooranilines

De gehalten aan de diverse chlooranilines in *grond* zijn bepaald na extractie van de grond met tolueen in basisch milieu. In een Erlenmeyer van ca. 200 ml werd ca. 25 g grond ingewogen. Hieraan werd 50 ml water met NaOH (pH = 11,5) toegevoegd waarna de grond los werd geschud. Vervolgens werd 25 ml tolueen toegevoegd en 10 min. ultrasoon getrild onder koeling met ijs. Na uitzakken van de grond werd de heldere tolueenlaag gedecanteerd en gebruikt voor analyse van de betreffende chlooraniline.

De analyse werd uitgevoerd met GC met als detectie vlamionisatie (FID).

De bepalingsgrens was 0,02 mg per kg.

De methode werd tevoren geverifieerd voor 2,4 di-; 2,4,5-tri- en 2,3,5,6-tetrachlooraniline.

De gehalten aan de diverse chlooranilines in *voedingsoplossing* zijn direct hierin bepaald met behulp van Reversed Phase (RP)-HPLC met UV-detectie ($\lambda = 254$ nm).

Kwantificering en kwalificering vonden plaats door middel van zogenaamde externe standaarden (minimaal vier concentraties), gekozen in het concentratiegebied van de te analyseren gehalten. De bepalingsgrens was 0,02 mg.l⁻¹.

2.4.3.2 Chloorbenzenen

De gehalten aan de diverse chloorbenzenen in *grond* zijn bepaald na extractie van de grond met tolueen.

In een Erlenmeyer van ca. 200 ml werd ca. 25 g grond ingewogen. Hieraan werd 50 ml water toegevoegd waarna de grond los werd geschud. Vervolgens werd 25 ml tolueen toegevoegd en 10 min. ultrasoon getrild onder koeling met ijs. Na uitzakken van de grond werd de heldere tolueenlaag gedecanteerd en gebruikt voor analyse van de betreffende chloorbenzeen.

De analyse werd uitgevoerd met GC met als detectie FID en/of ECD.

De bepalingsgrens was 0,01 mg per kg.

De methode werd tevoren geverifieerd voor 1,2,3-trichloorbenzeen.

De gehalten aan de diverse chloorbenzenen in *voedingsoplossing* zijn eveneens bepaald na extractie met tolueen. Hiertoe werd 500 ml geschud gedurende 30 minuten met 10 ml tolueen waarna de tolueenfractie werd geanalyseerd zoals beschreven voor de grondanalyse.

2.4.3.3 Overige stoffen

Voor de overige geanalyseerde stoffen wordt in onderstaand overzicht een samenvatting van de gebruikte methoden gegeven.

a. analyses in grond

Stof	Extractiemiddel	Analyse	Detectie
fenol	water	RP-HPLC	UV $\lambda = 271$ nm
2,3,5-trichloorfenol	hexaan	HR-GC	ECD
pentachloorfenol	hexaan	HR-GC	ECD
β -naftol	acetonitril	RP-HPLC	UV $\lambda = 226$ nm
benzaldehyde	acetonitril	RP-HPLC	UV $\lambda = 235$ nm
n-butylacetaat	methanol	HR-GC	FID
diethylftalaat	acetonitril (ANC)	RP-HPLC	UV $\lambda = 250$ nm
dibutylftalaat	50% ACN/50% gec. NaOH)	RP-HPLC	UV $\lambda = 220$ nm
diethylhexylftalaat	acetonitril	RP-HPLC	UV $\lambda = 235$ nm
decaan	CS ₂	HR-GC	FID
tolueen	CS ₂	HR-GC	FID
naftaleen	acetonitril	RP-HPLC	UV $\lambda = 254$ nm
bifenyl	acetonitril	RP-HPLC	UV $\lambda = 247$ nm
aniline	50% ACN/50% 0,1 M fosfaatbuffer (pH=3)	RP-HPLC	UV $\lambda = 230$ nm
aceetanilide	dichloormethaan	HR-GC	FID

Voor de niet genoemde stoffen leverde de chemische analyse geen bevredigende recovery op in grond. De monsters van de plantenproeven met deze stoffen konden daarom niet worden geanalyseerd (n.b. in Tabel 2).

Een aantal analyse-resultaten wordt als mislukt beschouwd, met name voor die stoffen waarbij wel de recoveries goed waren maar de analyse van de monsters van de plantenproeven veel later werd uitgevoerd dan de plantentoets (door capaciteitgebrek op de analytische afdeling) en de bepaalde gehalten zeer laag waren ten opzichte van de nominale waarden en/of de stof vluchtig of snel afbreekbaar was (m in Tabel 2).

Verder zijn enkele analyses mislukt door "technische fouten" (monsters verloren gegaan en dergelijke).

b. analyses in voedingsoplossing

Stof	Extractiemiddel	Analyse	Detectie
fenol	geen	RP-HPLC	UV $\lambda = 271$ nm
o-cresol	geen	RP-HPLC	UV $\lambda = 275$ nm
m-cresol	geen	RP-HPLC	UV $\lambda = 275$ nm
2,3,5-trichloorfenol	acetyleren; hexaan	HR-GC	ECD
pentachloorfenol	acetyleren; hexaan	HR-GC	ECD
β -naftol	geen	RP-HPLC	UV $\lambda = 226$ nm
benzaldehyde	geen	RP-HPLC	UV $\lambda = 235$ nm
n-butylacetaat	pentaan	HR-GC	FID
iso-butylalcohol	geen	HR-GC	FID
diethylftalaat	geen	RP-HPLC	UV $\lambda = 250$ nm
dibutylftalaat	geen	RP-HPLC	UV $\lambda = 220$ nm
diethylhexylftalaat	geen	RP-HPLC	UV $\lambda = 235$ nm
furaan	geen	RP-HPLC	UV $\lambda = 220$ nm
heptaan	CS ₂	HR-GC	FID
octaan	CS ₂	HR-GC	FID
tolueen	"purge & trap"	HR-GC	FID
naftaleen	geen	RP-HPLC	UV $\lambda = 254$ nm
bifenyyl	geen	RP-HPLC	UV $\lambda = 247$ nm
aniline	geen	RP-HPLC	UV $\lambda = 230$ nm
aceetanilide	dichloormethaan	HR-GC	NPD
rhodamine B	geen	RP-HPLC	UV $\lambda = 552$ nm
trypaan blauw	geen	RP-HPLC	UV $\lambda = 592$ nm
azinfosmethyl	geen	RP-HPLC	UV $\lambda = 217$ nm
endosulfan	geen	RP-HPLC	UV $\lambda = 217$ nm
triazofos	geen	RP-HPLC	UV $\lambda = 217$ nm

2.5 Criteria, definities en berekeningswijzen

2.5.1 Groei

De toetsen waren gericht op het beoordelen van groei van de planten onder invloed van de stoffen. De groei werd beoordeeld aan de hand van het natgewicht van de planten bij het einde van de expositie. Van elke plant afzonderlijk werd het natgewicht bepaald.

In de grondtoetsen werd de helft van de planten (10 stuks) geoogst en direct gewogen na ca. 1 week (7 ± 1 dag) en de andere helft na ca. 2 weken.

In de watertoetsen werden alle planten (10 stuks) alléén gewogen na ca. 2 weken (met uitzondering van enkele toetsen welke in aquaria werden uitgevoerd); deze planten werden tevens na 1 week gewogen).

Uit de wegingen per batch van meestal 10 planten werd het gemiddelde gewicht en de standaardafwijking (s) hierin bepaald.

Uit deze gegevens werden de EC50 en NOEC voor E = groei bepaald.

Tevens werd de NOLC (L is sterfte van reeds gekiemde of gegroeide plantjes) bepaald uit het aantal gewogen plantjes.

EC50

De EC50 is die concentratie van de stof waarbij na een bepaalde tijd het gemiddelde gewicht van de planten de helft is van dat van de controleplanten.

De EC50 en zijn betrouwbaarheidsinterval zijn berekend uit de concentratie-gewicht relatie, volgens: $W_c = W_0/[1 + (C/EC50)^g]$ (ref. 11)

waarbij: W_c = gewicht bij concentratie c

W_0 = gewicht van de controle

g = de parameter voor de gradiënt (dimensieloos)

EC50 = de concentratie waarbij het gewicht van de planten de helft is van dat van de controleplanten

De parameterwaarden werden bepaald volgens de methode van de kleinste kwadraten.

NOEC

De NOEC is de hoogste getoetste concentratie waarbij het gemiddelde gewicht van de planten niet significant geringer is dan dat van de controleplanten.

Significantie is bepaald met de Student-t test, met een tweezijdige overschrijdingskans van 1%.

NOLC

In enkele gevallen stierven reeds gekiemde plantjes tijdens de toets.

De NOLC is de hoogste getoetste concentratie waarbij tenminste 9 plantjes van 10 gekiemde plantjes overleefden gedurende de gehele proeftijd (ca. 2 weken).

2.5.2 Kieming

In grond

De kieming werd niet voor alle 40 ingezette zaden kwantitatief bijgehouden, daar de toets vooral gericht was op groei.

Na 4 à 7 dagen werd vastgesteld of de kieming normaal verliep, waarbij werd aangegeven: de kieming is goed dat wil zeggen gelijk aan de controle (dit is $\geq 90\%$), de zaden kiemen te laat of er kiemt slechts een deel van de zaden, of er kiemt géén enkel zaadje.

Soms kiemden de zaden, die aanvankelijk niet gekiemd waren, later in de proef alsnog. Het is niet onmogelijk dat deze zaden alsnog kiemden omdat de gehalten van de toegediende stoffen inmiddels door afbraak of vervluchtiging aanzienlijk lager waren geworden.

Uit de gegevens omtrent de kieming zijn de volgende waarden afgeleid:

LC100

De LC100 is de laagste getoetste concentratie waarbij geen enkel zaadje (van 20) gekiemd was. De LC100 is bepaald na 4 dagen (reeds na 1 à 2 dagen zijn in de controle alle zaden gekiemd) en bij het einde van de toets, waarbij de eerste waarde vermoedelijk het meest relevant is.

NOEC

De NOEC is de hoogste getoetste concentratie waarbij de kieming van de zaden gelijk was, in tijd en aantal, aan die van de controlezaden.

3. RESULTATEN EN DISCUSSIE

3.1 Chemische analyses

De resultaten van de chemische analyses zijn samengevat in Tabel 2.

Chlooranilines

De gemeten gehalten in de *voedingsoplossing*, zowel direct na het doseren als vlak voor de volgende verversing, benaderden de nominale gehalten. De planten zijn dus de gehele proeftijd bij benadering blootgesteld geweest aan de nominale gehalten.

In *grond* benaderden de geanalyseerde gehalten direct na doseren in de meeste gevallen ook de nominale gehalten.

Met name de gehalten aan laag gechloreerde anilines waren echter laag bij het einde van de proef ten opzichte van die bij het begin.

Deze afname kan te wijten zijn aan afbraak van deze stoffen in de grond òf aan een (voor de gebruikte extractiemethode) te sterke binding aan grond van deze stoffen (chlooranilines kunnen sterk binden aan grond). In het laatste geval zijn ze dan vermoedelijk ook weinig biologisch beschikbaar.

Chloorbenzenen

De gemeten gehalten in de *voedingsoplossing* direct na het doseren waren redelijk in overeenstemming met de gedoseerde gehalten. Vlak voor de verversing van de voedingsoplossing waren de gehalten voor enkele chloorbenzenen tot ca. 50% van de dosering gedaald. Het gemiddeld aanwezig gehalte tijdens de toets lijkt echter voldoende voor een redelijk betrouwbare schatting (binnen een factor 3) van de toxiciteit van de chloorbenzenen in voedingsoplossing.

De gehalten in *grond* waren echter reeds direct na de dosering laag ten opzichte van de gedoseerde (met uitzondering van 1,2,4,5-tetrachloorbenzeen).

Deze stoffen konden door hun hoge vluchtigheid niet zonder verliezen homogeen worden gemengd in grond met de beschikbare methoden, althans in de benodigde, vaak geringe hoeveelheden.

(Bij het druppelsgewijs toevoegen van toetsstof aan grond was de kieming en groei zeer onregelmatig daar de stof zich niet verdeelde; bij mengen in gesloten potten met zo weinig mogelijk lucht (door middel van rollen) ontstonden harde brokken grond; bij mengen met zand (van vaak zeer geringe hoeveelheden aan stof) en mengen van dit zand met grond vervluchtigde de stof en dit was vermoedelijk ook het geval bij doseren via aceton aan zand, vervluchtigen van de aceton en dan mengen van zand met grond.)

Indien geringe hoeveelheden aan zuivere stof gedoseerd moesten worden, werd via aceton gedoseerd, hetgeen tot de vaak lage gehalten leidde bij het begin van de toets.

De gehalten namen tijdens de toets verder af, vermoedelijk eveneens door vervluchtiging en bij de laag gechloreerde benzenen vermoedelijk tevens door afbraak.

De toxiciteit van de chloorbenzenen in grond, zoals bepaald in deze toets, wordt vermoedelijk onderschat.

Aromatische OH-verbindingen

De gemeten gehalten in de *voedingsoplossing* direct na het doseren waren redelijk in overeenstemming met de gedoseerde gehalten, met uitzondering van een laag gehalte bij fenol en bij o-cresol in de laagste geanalyseerde concentratie. De dosering van deze goed in water oplosbare stoffen is echter vermoedelijk wel juist geweest; het ligt meer voor de hand dat er bij de analyse iets mis is gegaan. De lagere gehalten aan deze stoffen waren met uitzondering van die aan pentachloorfenol niet geheel stabiel in de periode tussen de verversingen.

Daar de toetsoplossingen telkens na 2 of 3 dagen ververst zijn en de stoffen goed te doseren zijn, is de toxiciteit in voedingsoplossing vermoedelijk niet ernstig onderschat.

De analyses in *grond* van o- en m-cresol en β -naftol leverden problemen op.

De geanalyseerde gehalten aan tri- en penta-chloorfenol in *grond* zijn reeds direct na het doseren niet in overeenstemming met de gedoseerde gehalten. Alleen de dosering van fenol werd bevestigd door analyse. Gezien de aard van deze stoffen - ze zijn niet extreem vluchtig en goed in water oplosbaar - zijn de doseringen vermoedelijk wel juist geweest, maar leverde de extractie uit grond ten behoeve van de analyse problemen op.

Ook werden een aantal monsters lang ingevroren bewaard daar het moeilijk was de capaciteit op de analytische afdeling af te stemmen op die van de afdeling biologie.

Andere CHO-verbindingen

Voor benzaldehyde en n-butylacetaat geldt dat de doseringen zowel in *voedingsoplossing* als *grond* vermoedelijk goed geweest zijn, ondanks soms lage geanalyseerde gehalten bij het begin van de proef. De stoffen zijn niet extreem vluchtig en goed in water oplosbaar maar zeer snel afbreekbaar.

De gehalten na 2 à 3 dagen (in *voedingsoplossing*) of bij het einde van de proef (in *grond*) zijn dan ook zeer laag. Het is niet onmogelijk dat de toxiciteit van deze stoffen onderschat is zowel in *voedingsoplossing* als in *grond*.

De gehalten aan iso-butylalcohol bepaald in *voedingsoplossing* waren in overeenstemming met de gedoseerde gehalten zowel direct na dosering als na 2 à 3 dagen. Deze stof kon niet kwantitatief uit *grond* geëxtraheerd worden met de beschikbare middelen.

De geanalyseerde gehalten aan diethylftalaat direct na dosering waren zowel in *voedingsoplossing* als *grond* in overeenstemming met de doseringen. De stof was echter in beide media niet stabiel.

De bepaling van dibutylftalaat in *voedingsoplossing* is mislukt. De gehalten in *grond* direct na dosering waren in overeenstemming met de gedoseerde gehalten; ook deze stof brak echter af in *grond*.

De gehalten aan diethylhexylftalaat bepaald in *voedingsoplossing* waren onregelmatig en hoger dan de oplosbaarheid van deze stof in water bij het begin van de proef en duiden dus slechts op de aanwezigheid van niet opgeloste stof.

In *grond* waren de gehalten direct na dosering in overeenstemming met de gedoseerde gehalten; 60% van de stof was nog aanwezig bij het einde van de proef.

De geanalyseerde gehalten aan furaan in *voedingsoplossing* waren direct na doseren in overeenstemming met de doseringen; na 2 à 3 dagen was nog ca. 50% aanwezig. Deze stof kon met de beschikbare middelen niet uit *grond* geëxtraheerd worden.

Koolwaterstoffen

De alifatische koolwaterstoffen zijn zo vluchtig en slecht oplosbaar in water dat dosering en zinvolle analyse moeilijk was.

Op grond van de geanalyseerde gehalten zijn alleen van de toets met heptaan in *voedingsoplossing* de toxiciteitsgegevens enigszins betrouwbaar.

De geanalyseerde gehalten aan toluen in *voedingsoplossing* zijn direct na dosering in overeenstemming met de gedoseerde gehalten; deze stof was echter niet stabiel in *voedingsoplossing* gedurende 2 à 3 dagen.

De geanalyseerde gehalten in *grond* zijn reeds direct na doseren laag, vermoedelijk door de vluchtigheid van toluen.

De geanalyseerde gehalten aan naftaleen en bifenyl in *voedingsoplossing* zijn direct na doseren redelijk in overeenstemming met de gedoseerde; bij de lage concentraties waren deze gehalten echter niet stabiel. In *grond* waren de gehalten aan naftaleen direct na dosering tamelijk laag; van bifenyl waren deze redelijk in overeenstemming met de gedoseerde; voor beide stoffen daalden de gehalten tot bijna 0 tijdens de toets.

N-verbindingen

De geanalyseerde gehalten aan aniline en aceetanilide waren zowel in *voedingsoplossing* als in *grond* direct na het doseren redelijk in overeenstemming met de gedoseerde gehalten; deze stoffen waren echter in beide media niet stabiel.

Kwantitatieve extractie van pyridine, 1,2-diaminobenzeen en 2,5-diaminotolueensulfaat was met de beschikbare middelen niet mogelijk.

Kleurstoffen

De geanalyseerde gehalten aan rhodamine en trypaan blauw in *voedingsoplossing* waren zowel direct na doseren als na 2 à 3 dagen in overeenstemming met de gedoseerde gehalten.

Beide stoffen bleken niet kwantitatief uit *grond* te extraheren met de beschikbare middelen. Het was uit visuele waarnemingen echter duidelijk dat de stoffen aanwezig waren tijdens de proef in een reeks van oplopende concentraties.

Bestrijdingsmiddelen

De geanalyseerde gehalten aan azinfosmethyl en triazofos in *voedingsoplossing* waren zowel direct na doseren als na 2 à 3 dagen in overeenstemming met de gedoseerde gehalten. Geen van de stoffen bleek kwantitatief uit *grond* te extraheren met de beschikbare methoden.

Endosulfan is zeer weinig oplosbaar in water. De detectiegrens werd niet bereikt bij een vermoedelijk verzadigde oplossing.

"Samenvatting"

Indien bij de aanvang van de proef de gedoseerde gehalten niet bevestigd zijn door chemische analyse zijn de stofnamen in de Tabellen 3 t/m 7 en in Hoofdstuk 4 cursief gedrukt. Onder niet bevestigd wordt verstaan: niet geanalyseerd, analyses mislukt of geanalyseerde gehalten (gemiddeld) bedragen minder dan 50% van het nominale gehalte bij het begin van de proef.

3.2 pH-waarden en zuurstofgehalten

3.2.1 In grond

De pH-waarden van de grond werden nauwelijks beïnvloed door de stoffen in de gebruikte concentraties.

De pH-waarden waren tussen 7.1 en 7.6 voor alle stoffen in alle gemeten concentraties. (De zuurstofgehalten in grond werden niet gemeten.)

3.2.2 In voedingsoplossing

De pH-waarden van de voedingsoplossing werden voor de meeste stoffen nauwelijks beïnvloed in het gebruikte concentratiegebied.

Met uitzondering van de hierna genoemde stof en concentraties lagen de pH-waarden direct na doseren tussen 6.0 en 7.2.

De volgende afwijkingen hiervan werden gemeten:

stof	concentratie	pH
2,5 diaminotolueensulfaat	32	5,7
	100	4,5
	320	3,5

Het zuurstofgehalte in de vers bereide oplossingen was altijd $> 8 \text{ mg.l}^{-1}$, maar het daalde sterk in de periode tot de volgende verversing, met name bij aanwezigheid van biologisch afbreekbare toetsstoffen. In de controle daalde het zuurstofgehalte echter ook aanzienlijk tussen twee verversingen en wel steeds meer naarmate de blootstellingstijd vorderde (er

trad bacteriegroei op op de plantenwortels). Waarden tot $2,0 \text{ mg.l}^{-1}$ zijn voorgekomen in de blanco situatie.

Bij aanwezigheid van biologisch afbreekbare stoffen zijn nog lagere waarden voorgekomen.

Dergelijke lage waarden waren echter niet te voorkomen; uit een vooronderzoek is geconcludeerd dat dit de resultaten vermoedelijk weinig beïnvloedde (zie bijlage 5).

Tabel 2 Gemeten gehalten van de 50 stoffen in grond of voedingsoplossing.

Stof	Grond				Voedingsoplossing					
	nominiaal mg per kg	gevonden bij analyse			nominiaal mg per l	gevonden bij analyse				
		begin		eind		begin		eind ¹⁾		
		mg per kg	% van nominiaal	mg per kg		% van begin	mg per l	% van nominiaal	mg per l	% van begin
Chlooranilines										
2-chlooraniline	32 320 1000	17 259 804	53 81 80	0,74 54 239	4 21 30	3,2 32	3,2 32	100 100	3,2 31	100 97
3-chlooraniline	10 32 100	4,6 28 77	46 88 70	n.b. 0,3 13	1 17	3,2 32	3,2 32	100 100	3,1 33	97 103
2,4-dichlooraniline	32 320 1000	19 230 846	59 72 84	3,5 50 184	18 22 22	0,32 3,2 10	0,39 3,4 11	122 106 110	0,33 1,4 3,2	84 41 29
3,4-dichlooraniline	10 32 100	6,4 30 69	64 94 69	n.b. 8,4 21	28 30	1,0 10	1,1 12	110 120	0,9 10	82 83
3,5-dichlooraniline	3,2 32 320 1000	2,8 34 315 1180	88 106 98 118	0,2 9,4 n.b. n.b.	7 28	1,0 10	1,2 10	120 100	1,1 9,4	92 94
2,4,5-trichlooraniline	3,2 32 320 1000	1,7 23 374 1038	53 72 116 104	1,1 15 143 757	65 65 38 73	1,0 10	1,0 11	100 110	1,1 8,9	110 81



Tabel 2 Gemeten gehalten van de 50 stoffen in grond of voedingsoplossing (vervolg).

Stof	Grond				Voedingsoplossing					
	nominaal mg per kg	gevonden bij analyse			nominaal mg per l	gevonden bij analyse			eind ¹⁾	
		begin		eind		begin				
		mg per kg	% van nominaal			mg per l	% van nominaal			
Chlooranilines										
2,4,6-trichlooraniline	1,0	0,81	81	n.b.	1000	3,2	3,2	100	3,0	94
	10	3,3	33	33	100	8,3	8,3	83	8,3	100
	100	33	33	n.b.						
	320	89	28							
2,3,4,5-tetrachlooraniline	3,2	3,4	106	1,1	32	0,32	0,39	122	0,29	74
	32	28	88	12	42	3,2	3,7	116	3,7	100
	320	324	101	251	77	10	9,9	99	8,7	88
	1000	1156	116	1019	88					
2,3,5,6-tetrachlooraniline	3,2	1,1	34	0,9	81	1,0	0,96	96	1,3	135
	32	18	56	11	61	10 ²⁾	1,2	12	0,21	18
	320	261	82	241	92					
	1000	923	92	849	92					
pentachlooraniline	3,2	3,2	100	1,9	59	0,1	0,2	200	0,1	50
	32	30	94	22	73	1,0	0,9	90	0,4	44
	320	287	89	336	117					
	1000	956	96	760	79					

Tabel 2 Gemeten gehalten van de 50 stoffen in grond of voedingsoplossing (vervolg).

Stof	Grond				Voedingsoplossing				
	nominiaal mg per kg	gevonden bij analyse			nominiaal mg per l	gevonden bij analyse			
		begin		eind		begin		eind ¹⁾	
		mg per kg	% van nominiaal	mg per kg		% van begin	mg per l	% van nominiaal	mg per l
Chloor(nitro)benzenen									
monochloorbenzeen		n.b.		n.b.		n.b.		n.b.	
1,4-dichloorbenzeen	100 1000	17 619	17 62	2,8 253	3,2 10	2,8 4,2	88 42	1,9 2,2	68 52
1,2,3-trichloorbenzeen	10 100	0,15 37	1,5 37	0,81 13	0,032 0,32	0,034 m	106	0,028 m	82
1,2,4-trichloorbenzeen		m		m	1,0 10	1,1 7,5	110 75	0,65 5,6	59 75
1,3,5-trichloorbenzeen	32 320	6,4 256	20 80	0,5 36	0,32 3,2	0,29 2,4	91 75	0,14 1,5	48 63
1,2,3,4-tetrachloorbenzeen	3,2 100	11 18	344 18	5,4 15	0,32 3,2 10	0,25 3,2 9,1	78 100 91	0,14 1,9 6,2	56 59 68
1,2,4,5-tetrachloorbenzeen	100 1000	93 994	93 99	4,5 24	0,1 1,0 ²⁾	0,1 0,7	100 70	0,07 0,56	70 80
pentachloorbenzeen	3,2 100	3,1 25	94 25	1,5 25	0,32 1,0	0,47 1,2	147 120	0,19 0,6	40 50
hexachloorbenzeen	32 1000	42 150	131 15	m m	0,1 0,32	0,1 0,30	100 94	0,04 0,11	40 37



Tabel 2 Gemeten gehalten van de 50 stoffen in grond of voedingsoplossing (vervolg).

Stof	Grond				Voedingsoplossing				
	nominaal mg per kg	gevonden bij analyse			nominaal mg per l	gevonden bij analyse			
		begin		eind		begin		eind ¹⁾	
		mg per kg	% van nominaal			mg per l	% van nominaal		
Chloor(nitro)benzenen									
1-chloor-2-nitrobenzeen	m m	m m	m m	m m	0,1 1,0	0,11 1,1	0,12 1,1	110 110	109 100
1-chloor-3-nitrobenzeen	m m m	<0,01 0,02 0,46	n.b. m m	m m	0,32 3,2	0,33 3,5	0,32 3,4	103 109	97 97
OH-verbindingen									
fenol	10 100	6,6 67	0,04 <0,02	0,6	10 32 100	0,7 22 87	0,2 13 75	7 69 87	29 59 86
o-cresol	32 100	n.b. m	m m		10 100	2,8 90	<0,1 35	28 90	<4 39
m-cresol	10 100	m m	m m		3,2 32	3,6 31	<0,4 22	113 97	<11 71
2,3,5-trichloorfenol	32 320	11 132	12 115	109 87	0,32 3,2	0,32 3,1	0,15 3,3	100 97	47 106
pentachloorfenol	10 100	13 54	0,1 76	0,8 141	0,032 0,32	0,036 0,30	0,033 0,32	113 94	92 107
β-naftol	3,2 32	m m	m m	m m	3,2 32	3,2 33	1,1 17	100 103	34 52

Tabel 2 Gemeten gehalten van de 50 stoffen in grond of voedingsoplossing (vervolg).

Stof	Grond					Voedingsoplossing				
	nominiaal mg per kg	gevonden bij analyse			nominiaal mg per l	gevonden bij analyse			eind ¹⁾	
		begin		eind		begin		eind ¹⁾		
		mg per kg	% van nominiaal			mg per l	% van nominiaal			
CHO-verbindingen										
benzaldehyde	100 320 1000	19 285 1055	19 89 106	0 0 0	0 0 0	10 100	0,1 101	1 101	<0,01 0,2	<10 0,2
n-butylacetaat	10 100 320 1000	≤0,71 12,9 75,1 373	<7 12,9 23 37	n.b. n.b. n.b. n.b.	3,2 32 320	<0,5 <0,5 150	<16 < 2 47	<0,5 <0,5 81	54	
iso-butylalcohol		n.b.		n.b.	32 100	34 105	106 105	27 102	79 97	
diethylftalaat	100 320 1000	166 649 1469	166 203 147	0 0 0	0 0 0	10 100	6,2 127	62 127	<0,2 6,4	<32 5
dibutylftalaat	100 320 1000	88 226 1271	88 71 127	0 0 0	0 0 0	1,0 10 32	m m m	m m m		
diethylhexylftalaat	100 320 1000	148 383 1088	148 120 109	60 230 664	41 60 61	0,18 0,32 1,0	1,4 1,7 2,3	? ? ?	<0,1 <0,1 <0,1	
furaan	100 320 1000	m m m		n.b. n.b. n.b.	100 1000 1800	95 1000 1900	95 1000 1900	95 100 106	43 470 1000	45 47 53

Tabel 2 Gemeten gehalten van de 50 stoffen in grond of voedingsoplossing (vervolg).

Stof	Grond				Voedingsoplossing				
	nominaal mg per kg	gevonden bij analyse			nominaal mg per l	gevonden bij analyse			
		begin		eind		begin		eind ¹⁾	
		mg per kg	% van nominaal	mg per kg		% van begin	mg per l	% van nominaal	mg per l
Koolwaterstoffen	100	m		n.b.	verz.	2,7		1,9	70
	320	m		n.b.	1,0	0,44		<0,1	<23
	1000	m		n.b.	2,4	1,2		0,2	17
					3,2	1,2		0,2	17
	100	m		n.b.	verz.	0,71		0,06	8
	320	m		n.b.	0,56	<0,02		<0,01	<6
	1000	m		n.b.	1,0	0,18		<0,01	
	100	0,9		n.b.		m		m	
	320	16		n.b.					
	1000	170		n.b.					
	32	<1,4		n.b.	10	8,6		<0,6	<0,7
	100	8,4		n.b.	100	75		27	36
320	35		n.b.						
1000	145		n.b.						
10	1,0		<0,2	1,0	0,77		<0,1	<13	
100	46		<0,2	10	5,5		<0,1	<2	
				32	18		16	89	
3,2	1,9		<0,11	2,4	2,0		<0,01	<0,003	
32	25		0,7	3,8	3,3		2,1	64	
320	288		20	7,5	6,6		3,9	59	
				</					

Tabel 2 Gemeten gehalten van de 50 stoffen in grond of voedingsoplossing (vervolg).

Stof	Grond					Voedingsoplossing				
	nominaal mg per kg	gevonden bij analyse			nominaal mg per l	gevonden bij analyse			eind ¹⁾	
		begin		eind		begin		eind ¹⁾		
		mg per kg	% van nominaal			mg per l	% van nominaal			
N-verbindingen										
aniline	100 320 1000	88 272 890	88 85 89	10 10 26	3,2 32	3,3 34	103 106	<0,01 17	<0,3 50	
acetanilide	32 320	11 240	34 75	<0,4 0,04 m	3,2 32	3,5 33	109 103	<0,1 <0,1	<3 <0,3	
pyridine		n.b.				m		m		
1,2-diaminobenzeen		n.b.				m		m		
2,5-diaminotoluëensulfaat		n.b.				m		m		
Kleurstoffen										
rhodamine B		n.b.			10 100	11 110	110 110	11 110	100 100	
trypaan blauw		n.b.			32 320	30 223	94 70	29 131	97 59	



Tabel 2 Gemeten gehalten van de 50 stoffen in grond of voedingsoplossing (vervolg).

Stof	Grond					Voedingsoplossing					
	nominiaal mg per kg	gevonden bij analyse				nominiaal mg per kg	gevonden bij analyse				
		begin		eind			begin		eind ¹⁾		
		mg per kg	% van nominiaal	mg per kg	% van begin		mg per l	% van nominiaal	mg per l	% van begin	
Bestrijdingsmiddelen											
azinfosmethyl		n.b.		n.b.		10 18 32	10 17 29	100 94 91	7 13 13		70 76 79
endosulfan		n.b.		n.b.		'verz.'	3)				
triazofos		n.b.		n.b.		10 18 32	9,4 18 29	94 89 91	9,7 17 29		103 106 100

m = analyse mislukt

n.b. = niet bepaald

1) juist voor de volgende verversing

2) oplossing oververzadigd

3) lager dan de detectiegrens

3.3 Effecten op de planten bij toetsen in grond

3.3.1 Effecten op de kieming

De effecten op de kieming in grond van sla van de 50 stoffen zijn weergegeven in Tabel 3. Duidelijke remming van een normale kieming bij nominale gehalten ≤ 100 mg stof per kg droge grond werden veroorzaakt door: de mono-, di- en trichlooranilines, 1,2,3-trichloorbenzeen, 1-chloor-2-nitro- en 1-chloor-3-nitrobenzeen, 2,3,5-tri- en pentachloorfenol, acetanilide, pyridine en 1,2-diaminobenzeen.

De hoogste getoetste concentratie waarbij de kieming even snel en goed was als die van de controleplantjes (NOEC voor kieming) is gegeven in Tabel 4.

Tijdens de kieming zijn de potten afgedekt met een glasplaat hetgeen verdamping van de vluchtige stoffen (gedeeltelijk) verhindert.

Niet al te snel afbreekbare stoffen zijn vermoedelijk ook nog niet afgebroken in de eerste dagen na de dosering waarin de kieming plaatsvindt. Alleen stoffen met hoge waarden voor de constante van Henri ($> 0,1$ of $0,01$) zijn vermoedelijk reeds bij het doseren in zodanige mate vervluchtigd dat de proefresultaten leiden tot onderschatting van de schadelijkheid van de stoffen voor kieming. Dit zijn de mono-, di- en tri-chloorbenzenen, heptaan, octaan, decaan en toluen.

(Opmerking: de betrouwbaarheid van de literatuurgegevens betreffende dampspanning en/of wateroplosbaarheid, wordt voor een aantal stoffen betwijfeld; genoemde stoffenlijst hoeft daarom niet volledig te zijn.)

Effecten op kieming dienen zo snel mogelijk na het inzetten van de toets bepaald te worden bijvoorbeeld zodra de zaden in de controle normaal gekiemd zijn. Door afname van het gehalte aan stof kunnen niet gekiemde zaden later in de proef alsnog gaan kiemen.

3.3.2 Effecten op de groei

De effecten op de groei van sla in grond door de 50 stoffen zijn weergegeven in Tabel 4.

De groei van de planten werd voor alle stoffen beïnvloed bij lagere gehalten dan de kieming van de zaden of de sterfte van de planten.

In de toetsen met grond werd de EC50-waarde na ca. 1 week en na ca. 2 weken groei van de planten bepaald.

Bij de volgende stoffen nam de EC50-waarde meer dan een factor 2 af tussen deze waarnemingstijden: 2,3,5,6-tetrachlooraniline, 1,2,3,4-tetrachloorbenzeen, 1,2,4,5-tetrachloorbenzeen, pentachloorbenzeen, β -naftol, rhodamine B, azinfosmethyl en triazofos.

De invloed van deze stoffen op de groei van de planten nam dus toe bij langere blootstellingstijd. Het lijkt daarom niet waarschijnlijk dat deze stoffen binnen ca. 1 week (gedeeltelijk) verdwenen waren uit de grond bij gehalten in de buurt van de EC50-waarde. Dit werd slechts voor een deel van deze stoffen bevestigd uit de geanalyseerde gehalten.

Bij dibutylftalaat nam de EC50-waarde meer dan een factor 2 toe tussen beide waarnemingstijden. Vermoedelijk verdween dibutylftalaat snel uit de grond (dit werd door de analyseresultaten bevestigd) en was er niet reeds blijvende schade veroorzaakt, zodat de plantjes alsnog snel gingen groeien.

Bij een aantal stoffen werd geconstateerd dat de stof na ca. 2 weken (bijna) geheel verdwenen was, terwijl de EC50-waarde na 1 of 2 weken niet duidelijk ($> \text{factor } 2$) was toegenomen. Kennelijk was de schade aan de planten (wortels?) zodanig dat deze niet of niet snel herstelden en dus hun groeiachterstand behielden. Dit waren: 1,2,4,5-tetrachloorbenzeen, fenol, benzaldehyde, diethylftalaat, naftaleen, bifenyl en aceetanilide en wellicht een aantal van de stoffen waarvoor de analyses niet betrouwbaar waren.

Een klassificatie van de stoffen met betrekking tot hun EC50-waarden in grond wordt gegeven in Hoofdstuk 4.

De EC50-waarden zijn allen betrokken op de nominale gehalten van de stoffen in grond. Voor bepaalde stoffen kunnen de potentiële effecten (ernstig) onderschat zijn. Dit geldt vooral voor die stoffen, die reeds in hoge mate verdwenen waren uit de grond alvorens de zaden konden kiemen.

Alle raw-data zijn vermeld in Bijlage 4.

Tabel 3 *Percentage kieming van sla in grond bij de getoetste concentraties van de 50 stoffen.*

Stof	Gedo- seerd via	Concentratie mg per kg droog								
		0,10	0,32	1,0	3,2	10	32	100	320	1000
Chlooranilines										
2-chlooraniline	aceton		>90	>90	>90	>90	>90	0	0	0
3-chlooraniline	aceton		>90	>90	>90	>90	>90	0 ¹⁾		
2,4-dichlooraniline	aceton				>90	>90	>90	0	0	0
3,4-dichlooraniline	aceton		>90	>90	>90	>90	0	0		
3,5-dichlooraniline	aceton		>90	>90	>90	>90	30	0	0	0
2,4,5-trichlooraniline	aceton				>90	>90	>90	0	0	0
2,4,6-trichlooraniline	zand			>90	>90	>90	>90	laat ²⁾	0	
								>90		
2,3,4,5-tetrachlooraniline	aceton				>90	>90	>90	>90	0	0
2,3,5,6-tetrachlooraniline	aceton				>90	>90	>90	>90	>90	>90
pentachlooraniline	aceton				>90	>90	>90	>90	>90	>90
Chloor(nitro)benzenen										
monochloorbenzeen	aceton	>90	>90	>90	>90	>90	>90	>90	>90	>90
1,4-dichloorbenzeen	aceton	>90	>90	>90	>90	>90	>90	>90	>90	>90
1,2,3-trichloorbenzeen	aceton			>90	>90	>90	>90	0	0	0
1,2,4-trichloorbenzeen	aceton		>90	>90	>90	>90	>90	>90	35	
1,3,5-trichloorbenzeen	aceton		>90	>90	>90	>90	>90	>90	>90	
1,2,3,4-tetrachloorbenzeen	aceton			>90	>90	>90	>90	>90	laat ²⁾	laat ²⁾
									>90	>90
1,2,4,5-tetrachloorbenzeen	aceton			>90	>90	>90	>90	>90	>90	>90
pentachloorbenzeen	aceton			>90	>90	>90	>90	>90	>90	>90
hexachloorbenzeen	aceton				>90	>90	>90	>90	>90	>90
1-chloor-2-nitrobenzeen	aceton			>90	>90	>90	laat ²⁾	0	0	0
1-chloor-3-nitrobenzeen	aceton	>90	>90	>90	>90	>90	<90	0		

cursief: gehalte niet bepaald òf bij begin proef werd <50% van nominaal gevonden bij voor kieming relevant gehalte.

- 1) de zaden bij 100 mg.kg⁻¹ zijn zeer laat in proef alsnog gekiemd, waarschijnlijk omdat de stof inmid-dels verdwenen was.
- 2) de zaden kiemden laat in de proef t.o.v. de controlezaden

Tabel 3 *Percentage kieming van sla in grond bij de getoetste concentraties van de 50 stoffen (vervolg).*

Stof	Gedo-seerd via	Concentratie mg per kg droog							
		0,32	1,0	3,2	10	32	100	320	1000
OH-verbindingen (arom.)									
fenol	water		>90	>90	>90	>90	>90	laat ²⁾ >90	
<i>o-cresol</i>	water		>90	>90	>90	>90	>90	0	
<i>m-cresol</i>	water		>90	>90	>90	>90	>90	0	
<i>2,3,5-trichloorfenol</i>	aceton	>90	>90	>90	>90	>90	0	0	
pentachloorfenol	aceton	>90	>90	>90	>90	>90	0	0	
<i>β-naftol</i>	aceton	>90	>90	>90	>90	>90	>90	>90	
CHO-verbindingen									
benzaldehyde	aceton		>90	>90	>90	>90	>90	>90	>90
<i>n-butylacetaat</i>	water			>90	>90	>90	>90	>90	>90
<i>isobutylalcohol</i>	water			>90	>90	>90	>90	>90	15
diethylftalaat	aceton		>90	>90	>90	>90	>90	30	0
dibutylftalaat	aceton		>90	>90	>90	>90	>90	>90	>90
diethylhexylftalaat	aceton			>90	>90	>90	>90	>90	>90
<i>furaan</i>	aceton		>90	>90	>90	>90	>90	>90	>90
Koolwaterstoffen									
<i>heptaan</i>	aceton			>90	>90	>90	>90	>90	>90
<i>octaan</i>	aceton		>90	>90	>90	>90	>90	>90	>90
<i>decaan</i>	aceton		>90	>90	>90	>90	>90	>90	>90
<i>tolueen</i>	water			>90	>90	>90	>90	>90	>90
<i>naftaleen</i>	aceton	>90	>90	>90	>90	>90	>90		
bifenyyl	aceton		>90	>90	>90	>90	>90	>90	
N-verbindingen									
aniline	aceton		>90	>90	>90	>90	>90	laat ²⁾ >90	zeer laat ²⁾ >90
aceetanilide	aceton	>90	>90	>90	>90	>90	laat ²⁾ >90	zeer laat ²⁾ >90	
<i>pyridine</i>	water		>90	>90	>90	>90	laat ²⁾ >90	laat ²⁾ <90	<90
<i>1,2-diaminobenzeen</i>	aceton			>90	>90	>90	<90	23	0
<i>2,5-diaminotolueensulfaat</i>	zand			>90	>90	>90	>90	>90	>90

Tabel 3 *Percentage kieming van sla in grond bij de getoetste concentraties van de 50 stoffen (vervolg).*

Stof	Gedo-seerd via	Concentratie mg per kg droog								
		0,32	1,0	3,2	10	32	100	320	1000	3200
Kleurstoffen										
rhodamine B	water			>90	>90	>90	>90	>90	>90	laat ²⁾
trypaan blauw	water			>90	>90	>90	>90	>90	>90	>90
Bestrijdingsmiddelen										
azinfosmethyl	zand			>90	>90	>90	>90	>90	>90	
endosulfan	zand			>90	>90	>90	>90	>90	>90	
triazofos	aceton			>90	>90	>90	>90	>90	>90	

Tabel 4 De invloed van 50 stoffen op de kieming en groei van sla in grond (concentraties in mg per kg droge grond).

Stof	Groei van gekiemde plantjes					Kleming			Partij nr. grond
	EC50 (95% betr. int.)		NOEC		NOLC (na ca. 2 w)	LC100		1) NOEC (tijd + aantal)	
	na ca. 1 w	na ca. 2 w	na ca. 1 w	na ca. 2 w		na 4 à 7 d	na ca. 2 w		
Chlooranilines									
2-chlooraniline	>32	>32	≥32	10	32	100	100	32	LG-4
3-chlooraniline	17 (13-20)	15 (12-19)	3,2	3,2	(32)	100	≥ 100 ¹⁾	32	LG-4
2,4-dichlooraniline *	32 (24-43)	29 (24-36)	3,2	10	32	100	100	32	LG-4
3,4-dichlooraniline	>10 (bijna 10)	>10 (bijna 10)	1,0	1,0	10	32	32	10	LG-4
3,5-dichlooraniline	16 (13-20)	13 (10-16)	3,2	3,2	10	100	100	10	LG-4
2,4,5-trichlooraniline	25 (18-35)	17 (15-20)	10	3,2	32	100	100	32	LG-4
2,4,6-trichlooraniline	27 (20-36)	23 (20-28)	10	10	32	320	320	32	LG-4
2,3,4,5-tetrachlooraniline	47 (40-56)	24 (21-28)	10	10	32	320	320	100	LG-4
2,3,5,6-tetrachlooraniline	64 (42-99)	16 (13-19)	3,2	3,2	≥1000	>1000	>1000	≥1000	LG-4
pentachlooraniline *	647 (333-1255)	471 (296-751)	10	10	≥1000	>1000	>1000	≥1000	LG-4

¹⁾ Zowel de tijd benodigd voor de kieming als het percentage kieming werden betrokken bij het bepalen van de NOEC.

Tabel 4 De invloed van 50 stoffen op de kieming en groei van sla in grond (concentratie in mg per kg droge grond) (vervolg).

Stof	Groei van gekiemde plantjes					Kieming			Partij nr. grond
	EC50 (95% betr. int.)		NOEC		NOLC (na ca. 2 w)	LC100		NOEC (tijd + aantal)	
	na ca. 1 w	na ca. 2 w	na ca. 1 w	na ca. 2 w		na 4 à 7 d	na ca. 2 w		
Chloor(nitro)benzenen									
<i>monochloorbenzeen</i>	(bijna 1000) >1000	>1000	(1,0) ³⁾	(3,2) ³⁾	≥1000	>1000	>1000	≥1000	LG-4
<i>1,4-dichloorbenzeen</i>	213 (156-290)	248 (212-289)	10	32	≥1000	>1000	>1000	≥1000	LG-4
<i>1,2,3-trichloorbenzeen *</i>	5,8 (4,5-7,4)	3,8 (3,4-4,2)	1,0	1,0	3,2	100	100	32	LG-4
<i>1,2,4-trichloorbenzeen</i>	56 (43-74)	48 (41-56)	10	10	100	> 320	> 320	100	LG-5
<i>1,3,5-trichloorbenzeen</i>	115 (93-142)	123 (105-144)	10	1,0/32 ⁴⁾	≥ 320	> 320	> 320	≥ 320	LG-4
<i>1,2,3,4-tetrachloorbenzeen</i>	67 (45-98)	32 (27-38)	3,2	10	≥1000	>1000	>1000	100	LG-4
<i>1,2,4,5-tetrachloorbenzeen*</i>	4,2 (2,5-7,3)	1,3 (1,2-1,5)	<1,0	<1,0	≥1000	>1000	>1000	≥1000	LG-4
<i>pentachloorbenzeen *</i>	228 (93-554)	56 (39-81)	3,2	10	≥1000	>1000	>1000	≥1000	LG-4
<i>hexachloorbenzeen</i>	2170 (e)	>1000	10	100	≥1000	>1000	>1000	≥1000	LG-4
<i>1-chloor-2-nitrobenzeen *</i>	5,0 (4,0-6,0)	5,4 (4,7-6,2)	1,0	1,0	10	32	100 ²⁾	10	LG-4
<i>1-chloor-3-nitrobenzeen</i>	12 (10-14)	12 (11-13)	3,2	3,2	32	100 ⁵⁾	100 ⁵⁾	32	LG-4

Tabel 4 De invloed van 50 stoffen op de kieming en groei van sla in grond (concentratie in mg per kg droge grond) (vervolg).

Stof	Groei van gekiemde plantjes					Kieming			Partij nr. grond
	EC50 (95% betr. int.)		NOEC		NOLC (na ca. 2 w)	LC100		NOEC (tijd + aantal)	
	na ca. 1 w	na ca. 2 w	na ca. 1 w	na ca. 2 w		na 4 à 7 d	na ca. 2 w		
OH-verbindingen									
fenol *	146 (119-180)	168 (145-195)	32	32	≥ 320	320	≥ 320	100	LG-4
<i>o</i> -cresol	67 (52-86)	>100	10	32	100	320	320	100	LG-4
<i>m</i> -cresol	69 (51-94)	96 (63-147)	3,2	3,2	100	320	320	100	LG-4
2,3,5-trichloorfenol	8,5 (6,3-11)	8,9 (7,5-11)	1,0	3,2	10	100	100	32	LG-4
pentachloorfenol *	2,7 (2,2-3,5)	3,2 (2,7-3,7)	0,32	0,32	32	100	100	32	LG-4
<i>β</i> -naftol *	291 (218-388)	88 (72-107)	10	3,2	≥ 320	> 320	> 320	≥ 320	LG-4
CHO-verbindingen									
benzaldehyde *	563 (495-640)	624 (549-709)	32	100	≥1000	>1000	>1000	≥1000	LG-5
<i>n</i> -butylacetaat	1312 (e) (805-2100)	1459 (e) (805-2600)	32	100	≥1000	>1000	>1000	≥1000	LG-4
<i>iso</i> -butylalcohol *	351 (311-396)	366 (335-400)	100	100	320	>1000	>1000	320	LG-4
diethylftalaat	106 (89-127)	134 (116-155)	32	32	100	1000	1000	100	LG-5
dibutylftalaat	387 (262-570)	>1000	10	32	≥1000	>1000	>1000	≥1000	LG-5
diethylhexylftalaat	>1000	>1000	320	≥1000	≥1000	>1000	>1000	≥1000	LG-5
furaan *	863 (735-1012)	617 (549-694)	100	320	≥1000	>1000	>1000	≥1000	LG-5

Tabel 4 De invloed van 50 stoffen op de kieming en groei van sla in grond (concentratie in mg per kg droge grond) (vervolg).

Stof	Groei van gekiemde plantjes					Kieming			Partij nr. grond
	EC50 (95% betr. int.)		NOEC		NOLC (na ca. 2 w)	LC100		NOEC (tijd + aantal)	
	na ca. 1 w	na ca. 2 w	na ca. 1 w	na ca. 2 w		na 4 à 7 d	na ca. 2 w		
Koolwaterstoffen									
<i>heptaan</i> *	>1000	>1000							LG-5
<i>octaan</i>	>1000	>1000							LG-5
<i>decaan</i>	>1000	>1000							LG-5
<i>tolueen</i>	>1000	>1000	32	100	≥1000	>1000	>1000	≥1000	LG-4
<i>naftaleen</i>	(bijna 100) > 100	> 100	32	≥ 100	≥ 100	> 100	> 100	≥ 100	LG-4
bifenyyl	54 (39-76)	68 (56-83)	10	32	100	> 320	> 320	≥320	LG-4
N-verbindingen									
<i>aniline</i>	49 (43-56)	56 (49-64)	10	10	≥1000	320	>1000	100	LG-5
<i>aceetanilide</i> *	38 (28-50)	33 (27-41)	10	1,0	≥ 320	320	> 320	32	LG-4
<i>pyridine</i>	140 (119-165)	203 (176-234)	10	32	≥1000	>1000	>1000	100	LG-5
<i>1,2-diaminobenzeen</i>	25 (19-32)	> 10 < 32	10	10	(100)	320	1000	32	LG-5
<i>2,5-diaminotolueensulfaat</i>	>1000	>1000	320	≥1000	≥1000	>1000	>1000	≥1000	LG-5

Tabel 4 De invloed van 50 stoffen op de kieming en groei van sla in grond (concentratie in mg per kg droge grond) (vervolg).

Stof	Groei van gekiemde plantjes					Kieming			Partij nr. grond
	EC50 (95% betr. int.)		NOEC		NOLC (na ca. 2 w)	LC100		NOEC (tijd + aantal)	
	na ca. 1 w	na ca. 2 w	na ca. 1 w	na ca. 2 w		na 4 à 7 d	na ca. 2 w		
Kleurstoffen									
rhodamine B ⁶⁾ *	76 (60-97)	32 (28-37)	10	10	1000	3200	>3200	1000	LG-4
trypaan blauw ⁶⁾	263 (196-352)	290 (250-337)	10	100	320	>3200	>3200	≥3200	LG-4
Bestrijdingsmiddelen									
azinfosmethyl *	>1000 (bijna 1000)	360 (282-459)	32	100	≥1000	>1000	>1000	≥1000	LG-5
endosulfan *	>1000	>1000	320	320	≥1000	>1000	>1000	≥1000	LG-5
triazofos	224 (157-318)	85 (73-99)	10	32	≥1000	>1000	>1000	≥1000	LG-5

cursief: gehalte niet bepaald òf bij begin proef werd <50% van nominaal gevonden bij voor kieming of EC50 relevant gehalte.

* stof tevens getoetst door RIVM.

(e) waarde geëxtrapoleerd.

1) de zaden bij 100 mg.kg⁻¹ zijn zeer laat in proef alsnog gekiemd, waarschijnlijk omdat de stof inmiddels verdwenen was

2) paar zaden zeer laat gekiemd

3) niet reproduceerbaar

4) onregelmatige groei

5) wel gekiemd, maar na 8 dagen niet te oogsten, na 14 dagen zeer klein geoogst

6) ofschoon niet bepaald, waren deze stoffen duidelijk aanwezig in oplopende concentraties

3.4 Effecten op de planten bij toetsen in voedingsoplossing

3.4.1 Effecten op de kieming

De resultaten van de kieming van sla in perliet met voedingsoplossing bij de verschillende concentraties van de stoffen werden alleen visueel beoordeeld.

De resultaten zijn weergegeven in Tabel 5.

De hoogste getoetste concentratie waarbij de kieming even snel en goed was als die van de controleplantjes (NOEC) voor kieming is gegeven in Tabel 6.

Tijdens de kieming werd de voedingsoplossing niet ververst, deze situatie komt overeen met die in de toets met grond.

Ook hier geldt dat de kieming optreedt binnen korte tijd na de dosering van de stof, wanneer deze vermoedelijk nog niet vervluchtigd en/of afgebroken is (voor zover dit relevant is voor de betreffende stof). De verliezen aan vluchtige stoffen zullen echter bij doseren aan en mengen met water geringer zijn dan wanneer deze processen met grond plaatsvinden, zodat de nominale gehalten beter bereikt zullen worden in de toetsen met voedingsoplossing dan in die met grond.

Afbraak van afbreekbare stoffen zal vermoedelijk sneller gaan in grond dan in schone voedingsoplossing met perliet en adsorptie aan perliet zal vermoedelijk geringer zijn dan aan grond. Voor alle vluchtige, afbreekbare of adsorberende stoffen zal de NOEC in voedingsoplossing daarom geringer zijn dan in grond *op basis van nominale gehalten* (de werkelijk aanwezige en beschikbare gehalten zijn groter in water dan in grond bij dezelfde nominale gehalten). Dit werd bevestigd in de toetsen.

Voor alle vluchtige en aan grond adsorberende stoffen zijn de NOEC-waarden voor kieming uit Tabel 6 vermoedelijk een betere schatting van de effecten op kieming dan die van Tabel 4.

3.4.2 Effecten op de groei

De effecten op de groei van sla in voedingsoplossing van de 50 stoffen zijn weergegeven in Tabel 6.

In deze toetsen waren de gehalten aan de meeste stoffen redelijk constant tijdens de expositie van de planten en in redelijke overeenstemming met de nominale gehalten.

De waarden in Tabel 6 geven daarom de potentiële fytotoxiciteit van de stoffen weer.

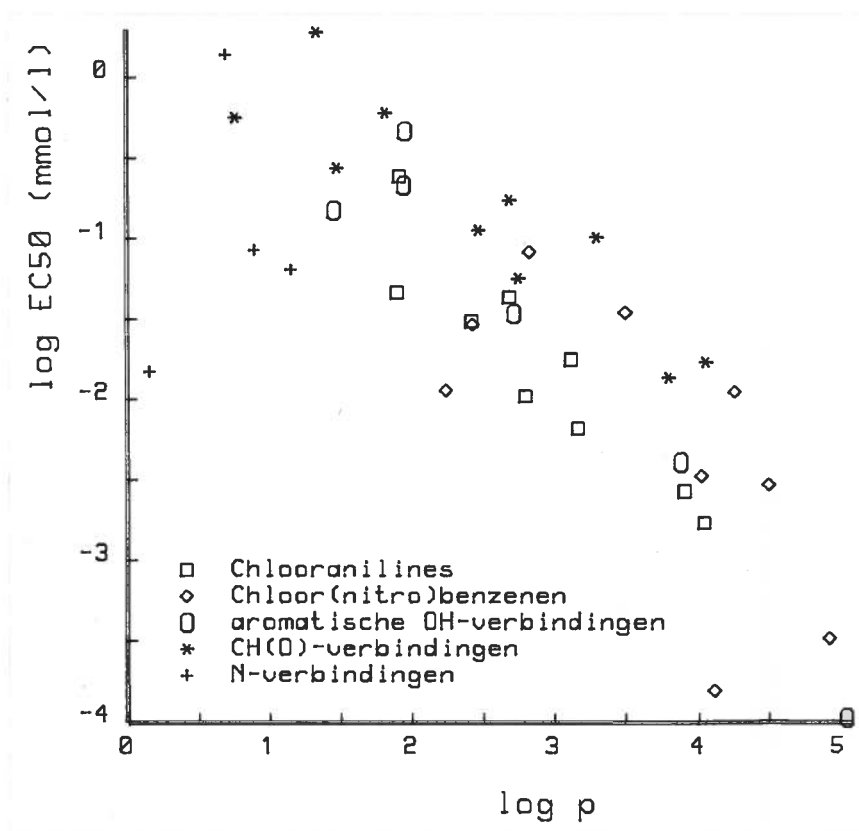
Het is niet waarschijnlijk dat de fytotoxiciteit in voedingsoplossing ernstig onderschat is door vervluchtiging of afbraak van de stoffen.

Zoals uit bovenstaande beschouwingen te verwachten is, zijn de effectparameters, betrokken op nominale gehalten, in voedingsoplossing allen lager dan in grond.

De stoffen zijn op basis van hun EC50-waarden in voedingsoplossing ingedeeld in klassen, evenals dit voor de EC50-waarden in grond is gedaan. Zie hiervoor Hoofdstuk 4.

Alle raw-data zijn vermeld in Bijlage 4.

Daar de effectparameters in voedingsoplossing een betrouwbare schatting leken te zijn van de potentiële fytoxiciteit werd nagegaan of er in dit geval (groei van sla) een verband was tussen de EC50 (mmol per l) en de verdelingscoëfficiënt octanol/water, evenals dit voor aquatische dierlijke organismen gevonden kan worden (QSAR's). Zie hiervoor Figuur 1. In Figuur 1 zijn niet opgenomen: alle stoffen waarvoor de EC50 niet bereikt werd bij de oplosbaarheid van de stof in water (pentachlooraniline, pentachloorbenzeen, hexachloorbenzeen, dibutylftalaat, diethylhexylftalaat, octaan, decaan en endosulfan) en 2,5-diaminotolueensulfaat omdat de log Po/w van deze stof (- 5,25) ver buiten het gebied van de log Po/w van de andere stoffen ligt.



Figuur 1 Verband tussen de log EC50 (mmol.l⁻¹) en de log Po/w voor 38 stoffen.

Tevens zijn een aantal regressielijnen berekend.

a) voor alle stoffen in Figuur 1.

Het model met de geschatte parameters is:

$$Y = 0,177 - 0,631 X$$

Deze schatting is gebaseerd op 38 waarnemingen.

De regressiecoëfficiënt is: -0,781.

De schatters met hun 95% betrouwbaarheidsintervallen zijn:

A 0,177 (-0,331 — 0,686)

B -0,631 (-0,802 — -0,460)

Een voorspelling van een Y-waarde bij een ingestelde X-waarde heeft als standaarddeviatie:

$$0,637 \times \{1,03 + ((X - 2,71) * 2) / 57,3\} * 0,5.$$

b) voor alle stoffen in Figuur 1 zonder 1,2-diaminobenzeen. (deze stof lijkt een "uitbijter").

Het model met de geschatte parameters is:

$$Y = 0,507 - 0,731 X$$

Deze schatting is gebaseerd op 37 waarnemingen.

De regressiecoëfficiënt is: -0,850.

De schatters met hun 95% betrouwbaarheidsintervallen zijn:

A 0,507 (0,0377 — 0,976)

B -0,731 (-0,886 — -0,575)

Een voorspelling van een Y-waarde bij een ingestelde X-waarde heeft als standaarddeviatie:

$$0,544 \times \{1,03 + ((X - 2,78) * 2) / 50,5\} * 0,5.$$

c) voor de chlooranilines ($\square$)

Het model met de geschatte parameters is:

$$Y = 0,569 - 0,817 X$$

Deze schatting is gebaseerd op 9 waarnemingen.

De regressiecoëfficiënt is: -0,928.

De schatters met hun 95% betrouwbaarheidsintervallen zijn:

$$A \quad 0,569 \quad (-0,303 \text{ — } 1,44)$$

$$B \quad -0,817 \quad (-1,11 \text{ — } -0,523)$$

Een voorspelling van een Y-waarde bij een ingestelde X-waarde heeft als standaarddeviatie:

$$0,268 \times \{1,11 + ((X - 2,88) * 2) / 4,66\} * 0,5.$$

d) voor de chloor(nitro)benzenen ($\diamond$)

Het model met de geschatte parameters is:

$$Y = 0,177 - 0,667 X$$

Deze schatting is gebaseerd op 9 waarnemingen.

De regressiecoëfficiënt is: -0,689.

De schatters met hun 95% betrouwbaarheidsintervallen zijn:

$$A \quad 0,177 \quad (-2,18 \text{ — } 2,53)$$

$$B \quad -0,667 \quad (-1,29 \text{ — } -0,0405)$$

Een voorspelling van een Y-waarde bij een ingestelde X-waarde heeft als standaarddeviatie:

$$0,713 \times \{1,11 + ((X - 3,65) * 2) / 7,25\} * 0,5.$$

- e) voor de aromatische alcoholen ($\square$)

Het model met de geschatte parameters is:

$$Y = 1,12 - 0,964 X$$

Deze schatting is gebaseerd op 6 waarnemingen.

De regressiecoëfficiënt is: -0,968.

De schatters met hun 95% betrouwbaarheidsintervallen zijn:

$$A \quad 1,12 \quad (0,0428 \text{ — } 2,20)$$

$$B \quad -0,964 \quad (-1,31 \text{ — } -0,616)$$

Een voorspelling van een Y-waarde bij een ingestelde X-waarde heeft als standaard-deviatie:

$$0,384 \times \{1,17 + ((X - 2,84) * 2) / 9,45\} * 0,5.$$

- f) voor de (andere) CHO-verbindingen en koolwaterstoffen (*)

Het model met de geschatte parameters is:

$$Y = 0,545 - 0,564 X$$

Deze schatting is gebaseerd op 10 waarnemingen.

De regressiecoëfficiënt is: -0,898.

De schatters met hun 95% betrouwbaarheidsintervallen zijn:

$$A \quad 0,545 \quad (-0,0515 \text{ — } 1,14)$$

$$B \quad -0,564 \quad (-0,788 \text{ — } -0,339)$$

Een voorspelling van een Y-waarde bij een ingestelde X-waarde heeft als standaard-deviatie:

$$0,318 \times \{1,10 + ((X - 2,44) * 2) / 10,7\} * 0,5.$$

g) voor de andere verbindingen met een stikstofatoom

Het model met de geschatte parameters is:

$$Y = -1,45 + 0,636 X$$

Deze schatting is gebaseerd op 4 waarnemingen.

De regressiecoëfficiënt is: 0,331.

De schatters met hun 95% betrouwbaarheidsintervallen zijn:

A -1,45 (-5,96 — 3,06)

B 0,636 (-4,88 — 6,16)

Een voorspelling van een Y-waarde bij een ingestelde X-waarde heeft als standaarddeviatie:

$$0,953 \times \{1,25 + ((X - 0,727) * 2) / 0,551\} * 0,5.$$

Er bestaat een goed verband tussen de EC50-waarde in voedingsoplossing en de log P o/w voor de aromatische alcoholen ($r = -0,968$ bij $n = 6$), de chlooranilines ($r = -0,928$ bij $n = 9$) en de overige CHO-verbindingen + koolwaterstoffen ($r = -0,898$ bij $n = 10$).

De correlatie was gering voor de chloor(nitro)benzenen en de N-verbindingen.

Ook voor alle 37 stoffen (de stoffen van Figuur 1 zonder de "uitbijter") was de correlatie nog redelijk ($r = -0,850$ bij $n = 37$).

In Figuur 1 lijken de chlooranilines (□) het meest toxisch, gevolgd door de aromatische fenolen (◻) respectievelijk de CHO-verbindingen en koolwaterstoffen (*). De 95% betrouwbaarheidsintervallen van de geschatte hellingen en intercepten van de regressielijnen overlappen elkaar echter.

Tabel 5 Kieming van sla in voedingsoplossing (met perliet) bij de getoetste concentraties van de 50 stoffen.

Stof	Gedo-seerd via	Concentratie (mg per liter)														
		0	0,0032	0,01	0,032	0,1	0,32	1,0	3,2	10	32	100	320	1000	1800	verz. opl.
Chlooranilines																
2-chlooraniline	water	g				g	g	g	g	m	k	-				
3-chlooraniline	water	g				g	g	g	g	m	k	-				
2,4-dichlooraniline	water	g				g	g	g	k	k	-	-				
3,4-dichlooraniline	water	g			g	g	g	g	m	k	-	-				
3,5-dichlooraniline	water	g			g	g	g	g	k	k	-	-				
2,4,5-trichlooraniline	T.B.A. ⁴⁾	g			g	g	g	g	m	m						
2,4,6-trichlooraniline	T.B.A.	g			g	g	g	g	m	m						
2,3,4,5-tetrachlooraniline	T.B.A.	g			g	g	g	g	m	k						
2,3,5,6-tetrachlooraniline	T.B.A.	g			g	g	g	g	n.b.	n.b.						n.b.
pentachlooraniline	T.B.A	g		g	g	g	g	g	n.b.	n.b.						
Chloor(nitro)benzenen																
monochloorbenzeen	water	g														
1,4-dichloorbenzeen	T.B.A.	g				n.b.	n.b.	n.b.	n.b.	n.b.	n.b.	n.b.	n.b.			n.b.
1,2,3-trichloorbenzeen	T.B.A.	g	g		g	k	k	n.b.	n.b.	n.b.						
1,2,4-trichloorbenzeen	T.B.A.	g		g		g	g	-	-	-						
1,3,5-trichloorbenzeen	T.B.A.	g				g	g	g	m	k						
1,2,3,4-tetrachloorbenzeen	T.B.A.	g		g		g	g	g	m	k						
1,2,4,5-tetrachloorbenzeen	T.B.A.	g		g		g	g	g	m	k						
pentachloorbenzeen	T.B.A.	g		g		g	g	g	g							g
hexachloorbenzeen	T.B.A.	g		g		g	g	g	g							
1-chloor-2-nitrobenzeen	water	g		g		g	m	k	k	k	k					
1-chloor-3-nitrobenzeen	water	g		g		g	g	m	m							

Tabel 5 Kieming van sla in voedingsoplossing (met perliet) bij de getoetste concentraties van de 50 stoffen (vervolg).

Stof	Gedo- seerd via	Concentratie (mg per liter)													1800	verz. opl.
		0	0,0032	0,01	0,032	0,1	0,32	1,0	3,2	10	32	100	320	1000		
OH-verbindingen <i>fenol</i> <i>o-cresol</i> <i>m-cresol</i> 2,3,5-trichloorfenol pentachloorfenol β -naftol	water	g						g	g	g	m	k	-	-		
	water	g			g		g	g	g	g	k	k	-	-		
	water	g			g		g	g	g	g	k	k	-	-		
	water	g		g	g	m	g	g	m	-	-	-	-	-		
	water	g		g	m	g	g	g	-	-	-	-	-	-		
	water	g			g	g	g	g	g	m	k	k	-	-		
CHO-verbindingen <i>benzaldehyde</i> <i>n-butylacetaat</i> iso-butylalcohol	water	g					g	g	g	g	m	m	-	-		
	water	g					g	g	g	g	g	m	k	-		
	water	g						g	g	g	g	m	k	-		
	water	g				n.b.		n.b.	n.b.	n.b.	n.b.	n.b.	n.b.	-		
	water	g			n.b.	n.b.	n.b.	n.b.	n.b.	n.b.	n.b.	n.b.	n.b.	-		
	T.B.A.	g		n.b.	n.b.	n.b.	n.b.	n.b.	n.b.	n.b.	n.b.	n.b.	n.b.	-		
Koolwaterstoffen heptaan octaan decaan tolueen naftaleen bifenyli ¹⁾	water	g						g	g	g	g	g	g	m		
	T.B.A.	g				g ³⁾	g ³⁾	g ³⁾	g ³⁾	g ³⁾	g ³⁾	g ³⁾	g ³⁾	g ³⁾		g ³⁾
	T.B.A.	g				g ³⁾	g ³⁾	g ³⁾	g ³⁾	g ³⁾	g ³⁾	g ³⁾	g ³⁾	g ³⁾		g ²⁾³⁾
	T.B.A.	g				g ²⁾³⁾	g ²⁾³⁾	g ²⁾³⁾	g ²⁾³⁾	g ²⁾³⁾	g ²⁾³⁾	g ²⁾³⁾	g ²⁾³⁾	g ²⁾³⁾		g ²⁾³⁾
	water	g							n.b.	n.b.	n.b.	n.b.	n.b.	n.b.		
	T.B.A.	g				g	g	g	g	m	m	g	g	g		

Tabel 5 Kieming van sla in voedingsoplossing (met perliet) bij de getoetste concentraties van de 50 stoffen (vervolg).

Stof	Gedo- seerd via	Concentratie (mg per liter)												
		0	0,1	0,32	1,0	3,2	10	18	32	100	320	1000	3200	verz. opl.
N-verbindingen	water	g												
	aniline	g	g	g	g	m	k	k	k	k				
	water	g	g	g	g	m	m	k	k	k				
	acetanilide	g				g	g	g	k	k				
	water	g				g	g	g	k	k				
	pyridine	g				g	g	g	k	k				
Kleurstoffen	water	n.b.	n.b.	n.b.	n.b.	n.b.	n.b.	n.b.	n.b.	n.b.				
	1,2-diaminobenzeen	g	g	g	g	g	g	m	k	k				
	2,5-diaminotoluëensulfaat	g												
	water													
	rhodamine B	g												
	trypaan blue	g												
Bestrijdingsmiddelen	water	g												
	azinfosmethyl	g												
	water													
	endosulfan													
	triazofos													
	water													

cursief : gehalte niet bepaald of bij begin proef werd <50% van nominaal gevonden bij voor kieming relevant gehalte.

g = gelijk aan controle (goed)

m = niet geheel gelijk aan controle

k = duidelijk kleinere of slechtere plantjes

n.b. = niet bepaald

– = geen kieming of plantenwortels te klein om de plantjes in waterculturen over te plaatsen.

1) andere concentratiereeks gebruikt

2) oververzadigd (niet allemaal verder getoetst)

3) alle plantjes onregelmatig, maar geen duidelijk effect

4) tertiair butyl alcohol (TBA)

Tabel 6 De invloed van 50 stoffen op de kieming en groei van sla in de voedingsoplossing.

Stof	Groei (16 dagen na zaaien)			Kieming NOEC
	EC50 (betr. int.) (mg.l ⁻¹)	NOEC (mg.l ⁻¹)	NOLC (mg.l ⁻¹)	
Chlooranilines				
2-chlooraniline	31 (27-37)	3,2	32	3,2
3-chlooraniline	5,9 (5,0-6,9)	0,32	32	3,2
2,4-dichlooraniline*	7,0 (5,7-8,7)	3,2 (onregelmatig) (visueel 0,32)	10	1,0
3,4-dichlooraniline	1,7 (1,5-1,9)	0,32	10	1,0
3,5-dichlooraniline	5,0 (4,2-5,9)	1,0	10	1,0
2,4,5-trichlooraniline	1,3 (1,2-1,5)	0,32	3,2	1,0
2,4,6-trichlooraniline	3,5 (3,1-3,9)	1,0	≥10	1,0
2,3,4,5-tetrachlooraniline	0,39 (0,33-0,45)	0,1	3,2	1,0
2,3,5,6-tetrachlooraniline	0,62 (0,53-0,73)	0,1	≤10	?
pentachlooraniline*	> verz.	0,1	> verz.	?

Tabel 6 De invloed van 50 stoffen op de kieming en groei van sla in de voedingsoplossing (vervolg).

Stof	Groei (16 dagen na zaaien)			Kieming NOEC
	EC50 (betr. int.) (mg.l ⁻¹)	NOEC (mg.l ⁻¹)	NOLC (mg.l ⁻¹)	
Chloor(nitro)benzenen				
<i>monochloorbenzeen</i>	9,3 (7,5-12)	3,2	100	100
1,4-dichloorbenzeen	5,1 (4,2-6,2)	1,0	≥10	?
1,2,3-trichloorbenzeen*	0,028 (0,022-0,036)	0,01	0,32	0,032
1,2,4-trichloorbenzeen	0,60 (0,53-0,69)	<0,1	≥10	1,0
1,3,5-trichloorbenzeen*	2,0 (1,6-2,6)	0,32	10	1,0
1,2,3,4-tetrachloorbenzeen	0,63 (0,53-0,76)	0,032	≥10	1,0
1,2,4,5-tetrachloorbenzeen*	0,07 (0,06-0,09)	0,01	≥ 1,0	0,32
pentachloorbenzeen *	ca. 1,0 ²⁾	0,1	≥ 1,0 ²⁾	≥ 1,0 ²⁾
hexachloorbenzeen	> opl.	> opl.	> opl.	≥ 0,32 ²⁾
1-chloor-2-nitrobenzeen*	1,8 (1,6-2,0)	0,32	3,2	0,32
1-chloor-3-nitrobenzeen	4,6 (4,2-5,1)	1,0	≥32	3,2
OH-verbindingen (arom.)				
<i>fenol</i> ¹⁾ *	14 (7,8-24)	3,2	100	10
<i>o-cresol</i> ¹⁾	23 (16-31)	3,2	100	10
<i>m-cresol</i>	50 (42-61)	3,2	100	10
2,3,5-trichloorfenol	0,79 (0,63-0,99)	<0,032 (bijna 0,032)	3,2	1,0
pentachloorfenol*	0,028 (0,022-0,039)	0,01	1,0	0,032
β-naftol*	4,9 (3,9-6,0)	(<0,1) visueel 0,32	≥32	3,2

Tabel 6 De invloed van 50 stoffen op de kieming en groei van sla in de voedingsoplossing (vervolg).

Stof	Groei (16 dagen na zaaien)			Kieming NOEC
	EC50 (betr. Int.) (mg.l ⁻¹)	NOEC (mg.l ⁻¹)	NOLC (mg.l ⁻¹)	
CHO-verbindingen				
<i>benzaldehyde</i> *	29 (25-34)	1,0	100	10
<i>n-butylacetaat</i> ¹⁾	70 (49-100)	32	320	32
<i>iso-butylalcohol</i> *	42 (32-54)	3,2	320	32
<i>diethylftalaat</i>	25 (21-28)	3,2	≥320	n.b.
<i>dibutylftalaat</i>	65 ²⁾ (36-117)	3,2	≥ 32 ²⁾	n.b.
<i>diethylhexylftalaat</i>	> opl.	> opl.	> opl.	> opl.
<i>furaan</i> *	130 (110-153)	32	320	320
Koolwaterstoffen				
<i>heptaan</i> *	1,7 (1,4-2,0)	0,32	> opl.	> opl.
<i>octaan</i>	> opl.	> opl.	> opl.	> opl.
<i>decaan</i>	> opl.	ca. opl.	> opl.	> opl.
<i>tolueen</i>	16 (13-21)	3,2	≥320	n.b.
<i>naftaleen</i>	13 (4,8-34)	3,2	≥ 32	3,2
<i>bifenyl</i>	2,1 (1,3-3,3)	0,75	≥ 7,5	≥ 7,5

Tabel 6 De invloed van 50 stoffen op de kieming en groei van sla in de voedingsoplossing (vervolg).

Stof	Groei (16 dagen na zaaien)			Kieming NOEC
	EC50 (betr. int.) (mg.l ⁻¹)	NOEC (mg.l ⁻¹)	NOLC (mg.l ⁻¹)	
N-verbindingen				
aniline	7,9 (6,9-8,9)	1,0	≥ 32	1,0
aceetanilide*	8,6 (7,5-9,9)	1,0	100	3,2
pyridine	110 (96-125)	10	320	32
1,2-diaminobenzeen	1,6 (1,4-1,9)	0,32	10	?
2,5-diaminotolueensulfaat	7,5 (6,6-8,5)	<1,0 (bijna 1,0)	100	10
Kleurstoffen				
rhodamine B*	2,5 (2,1-2,9)	0,32	100	10
trypaan blauw	113 (79-161)	10	1000	10
Bestrijdingsmiddelen				
azinfosmethyl*	18 (15-19)	3,2	32	?
endosulfan*	> opl.	> opl.	> opl.	> opl.
triazofos	25 (21-30)	10	>32 en > opl.	?

cursief: gehalte niet bepaald of bij begin proef werd <50% van nominaal gevonden bij voor kieming relevant
gehalte

* stof tevens getoetst door RIVM

n.b. niet bepaald

1) in aquarium met 24 planten

2) waarde hoger dan de oplosbaarheid in water

3.5 Vergelijking van de effecten in grond en voedingsoplossing

In Tabel 7 zijn EC50- en NOEC-waarden voor groei in grond vergeleken met die in voedingsoplossing.

De verhouding tussen deze waarden kan een indicatie zijn voor de verminderde beschikbaarheid van de stoffen in grond, bijvoorbeeld door adsorptie, ten opzichte van die in voedingsoplossing.

De stof mag dan niet snel verdwenen zijn bijvoorbeeld door vervluchtiging of afbraak, waarbij de EC50-waarde zoals bepaald op basis van nominale gehalten in een van beide media - meestal grond - de toxiciteit "onderschat". Ten behoeve van deze vergelijking zijn de EC50- en NOEC-waarden in grond berekend alsof alle gedoseerde stof in de waterfase van de grond aanwezig zou zijn. Voor chlooranilines geldt dat zowel in grond als voedingsoplossing de EC50-waarden redelijk betrouwbaar lijken. Uit de verhouding tussen deze waarden kan men dan afleiden dat de beschikbaarheid in grond relatief geringer wordt bij oplopende chloreringsgraad.

Voor de andere stoffen, waarbij de EC50-waarde zowel in grond als in voedingsoplossing steunt op chemische analyses, geldt vermoedelijk: sterke adsorptie trad op bij pentachloorfenol en bifenyl; matige adsorptie trad op bij 1,2,4,5-tetrachloorbenzeen, rhodamine B, aniline en diethylftalaat en een geringe adsorptie trad op trypaan blauw (allen relatief ten opzichte van elkaar).

Rhodamine B werd zichtbaar door de planten opgenomen (deze kleurden rood).

Voor alle andere stoffen geldt dat òf in grond òf in voedingsoplossing de EC50-waarde niet betrouwbaar genoeg geacht wordt voor deze vergelijking.

3.6 Vergelijking van het gehalte aan droge stof van controleplanten en planten met groeiremming

In het algemeen was het gehalte aan droge stof van planten met groeiremming iets hoger dan dat van de bijbehorende controleplanten. De verschillen zijn weergegeven in bijlage 6.

Tabel 7 *Vergelijking van de groei van sla in grond (berekend op de waterfase) en voedingsoplossing onder invloed van 50 toxische stoffen.*

Stof	EC50 na ca. 2 w			EC50 g EC50 w	NOEC na ca. 2 w			NOEC g NOEC w
	grond		water		grond		water	
	totaal	water- fase			totaal	water- fase		
Chlooranilines								
2-chlooraniline	> 32	> 100	31	> 3,2	10	32	3,2	10
3-chlooraniline	15	47	5,9	8,0	3,2	10	0,32	32
2,4-dichlooraniline	29	90	7,0	13	10	32	0,32-3,2	100-10
3,4-dichlooraniline	~ 10	~ 32	1,7	19	1,0	3,2	0,32	10
3,5-dichlooraniline	13	40	5,0	8,0	3,2	10	1,0	10
2,4,5-trichlooraniline	17	53	1,3	41			0,32	
2,4,6-trichlooraniline	23	71	3,5	20	10	32	1,0	32
2,3,4,5-tetrachlooraniline	24	74	0,39	190	10	32	0,1	320
2,3,5,6-tetrachlooraniline	16	50	0,62	81	3,2	10	0,1	100
pentachlooraniline	471	1460	> opl.	–	10	32	0,1	320
Chloor(nitro)benzenen								
monochloorbenzeen	>1000	>3100	9,3	>310	3,2	10	3,2	3,2
1,4-dichloorbenzeen	248	770	5,1	151			1,0	
1,2,3-trichloorbenzeen	3,8	12	0,028	429	1,0	3,2	0,01	320
1,2,4-trichloorbenzeen	48	150	0,60	250	10	32	< 0,1	> 320
1,3,5-trichloorbenzeen	123	380	2,0	190	1,0-32	3,2-100	0,32	10-320
1,2,3,4-tetrachloorbenzeen	32	100	0,63	159	10	32	0,032	1000
1,2,4,5-tetrachloorbenzeen	1,3	4,0	0,07	57	< 1,0	< 3,2	0,01	< 320
pentachloorbenzeen	56	170	ca. 1,0	170	10	32	0,1	320
hexachloorbenzeen	>1000	>3100	> opl.	–	100	320	> opl.	-
1-chloor-2-nitrobenzeen	5,4	17	1,8	9,4	1,0	3,2	0,32	10
1-chloor-3-nitrobenzeen	12	37	4,6	8,0	3,2	10	1,0	10
OH-verbindingen (arom.)								
fenol	168	520	14	37	32	100	3,2	32
o-cresol	> 100	> 310	23	> 13	32	100	3,2	32
m-cresol	96	300	50	6	3,2	10	3,2	3,2
2,3,5-trichloorfenol	8,9	28	0,79	35	3,2	10	~ 0,032	320
pentachloorfenol	3,2	10	0,028	357	0,32	1	0,01	100
β-naftol	88	270	4,9	55	3,2	10	<0,1- 0,32	>100-32

Tabel 7 *Vergelijking van de groei van sla in grond (berekend op de waterfase) en voedingsoplossing onder invloed van 50 toxische stoffen.*

Stof	EC50 na ca. 2 w			EC50 g EC50 w	NOEC na ca. 2 w			NOEC g NOEC w
	grond		water		grond		water	
	totaal	water- fase			totaal	water- fase		
CHO-verbindingen								
benzaldehyde	624	1900	29	66	100	320	1,0	320
n-butylacetaat	1459(e)	4500	70	64	100	320	32	10
iso-butylalcohol	366	1100	42	26	100	320	3,2	100
diethylfalaat	134	420	25	17	32	100	3,2	32
dibutylfalaat	>1000	>3100	> opl.	—	32	100	3,2	32
diethylhexylfalaat	>1000	>3100	> opl.	—	≥1000	≥3200	> opl.	—
furaan	617	1900	130	15	320	1000	32	32
Koolwaterstoffen								
heptaan			1,7				0,32	
octaan			> opl.					
decaan			> opl.					
tolueen	>1000	>3100	16	>193	100	320	3,2	100
naftaleen	> 100	> 310	13	> 24	≥ 100	≥ 320	3,2	≥ 100
bifenyyl	68	210	2,1	100	32	100	0,75	133
N-verbindingen								
aniline	56	174	7,9	22	10	32	1,0	32
aceetanilide	33	100	8,6	12	1,0	3,2	1,0	3,2
pyridine	203	629	110	5,7	32	100	10	10
1,2-diaminobenzeen	18	56	1,6	35	10	32	0,32	100
2,5-diaminotolueensulfaat	>1000	>3100	7,5	>413	≥1000	≥3200	ca. 1,0	ca. 3200
Kleurstoffen								
rhodamine B	32	100	2,5	40	10	32	0,32	100
trypaan blauw	290	900	113	8,0	100	320	10	32
Bestrijdingsmiddelen								
azinfosmethyl	360	1116	18	62	100	320	3,2	100
endosulfan	>1000	>3100	> opl.	—	320	1000	> opl.	—
triazofos	85	260	25	10	32	100	10	10

cursief : gehalte niet bepaald òf bij begin proef werd <50% van nominaal gevonden bij voor EC50 respectievelijk NOEC relevant gehalte in grond en/of water.

(e) : geëxtrapoleerd

4. KLASSERING VAN DE STOFFEN

De stoffen zijn op grond van hun EC50-waarde (na één of twee weken¹⁾) ingedeeld in de volgende klassen:

grond mg.kg ⁻¹		voedingsoplossing mg.l ⁻¹		klassering
EC50	< 1	EC50	< 1	zeer giftig
EC50	1 – 10	EC50	1 – 10	giftig
EC50	10 – 100	EC50	10 – 100	matig giftig
EC50	100 – 1000	EC50	100 – 1000	weinig giftig
EC50	> 1000	EC50	> 1000	zeer weinig giftig

¹⁾ Meestal was er weinig verschil tussen de EC50 na één of twee weken groei in grond. Indien dit wel zo was is de laagste EC50-waarde gebruikt bij deze evaluatie.

Ook hier zijn die stoffen cursief gedrukt waarvan de EC50-waarden niet gesteund worden door geanalyseerde gehalten aan stof bij het begin van de toets. De stoffen zijn geplaatst op volgorde van toxiciteit.

Alle EC50-waarden berusten op nominale concentraties van de stoffen (ze zijn afgerond achter de stofnaam geplaatst).

Volgens deze klassering waren:

Zeer giftig (EC50 <1)

In grond	In voedingsoplossing	
geen van de stoffen	pentachloorfenol	(0,03)
	1, 2, 3-trichloorbenzeen	(0,03)
	1, 2, 4, 5-tetrachloorbenzeen	(0,07)
	2, 3, 4, 5-tetrachlooraniline	(0,4)
	2, 3, 5, 6-tetrachlooraniline	(0,6)
	1, 2, 4-trichloorbenzeen	(0,6)
	1, 2, 3, 4-tetrachloorbenzeen	(0,6)
	2, 3, 5-trichloorfenol	(0,8)

Giftig (EC50 1–10)

In grond	In voedingsoplossing
1, 2, 4, 5-tetrachloorbenzeen (1)	pentachloorbenzeen (1)
pentachloorfenol (3)	2, 4, 5-trichlooraniline (1)
1, 2, 3-trichloorbenzeen (4)	1, 3, 5-trichloorbenzeen (2)
1-chloor-2-nitrobenzeen (5)	1 chloor-2-nitrobenzeen (2)
2, 3, 5-trichloorfenol (9)	3, 4-dichlooraniline (2)
	heptaan (2)
	bifenyyl (2)
	1, 2-diaminobenzeen (2)
	rhodamine B (3)
	2, 4, 6-trichlooraniline (4)
	3, 5-dichlooraniline (5)
	1, 4-dichloorbenzeen (5)
	1-chloor-3-nitrobenzeen (5)
	β-naftol (5)
	3-chlooraniline (6)
	2,4-dichlooraniline (7)
	aniline (8)
	2, 5-diaminotolueen-sulfaat (8)
	aceetanilide (9)
	monochloorbenzeen (9)

Matig giftig (EC50 10–100)

In grond	In voedingsoplossing
3, 4-dichlooraniline (ca. 10)	naftaleen (13)
<i>1-chloor-3-nitrobenzeen</i> (12)	<i>fenol</i> (14)
3, 5-dichlooraniline (13)	tolueen (16)
3-chlooraniline (15)	azinfosmethyl (18)
2, 3, 5, 6-tetrachlooraniline (16)	<i>o-cresol</i> (23)
2, 4, 5-trichlooraniline (17)	triazofos (25)
<i>2, 4, 6-trichlooraniline</i> (23)	diethylftalaat (25)
2, 3, 4, 5-tetrachlooraniline (24)	<i>benzaldehyde</i> (29)
<i>1, 2-diaminobenzeen</i> (25)	2-chlooraniline (30)
2, 4-dichlooraniline (29)	m-cresol (50)
<i>1, 2, 3, 4-tetrachloorbenzeen</i> (32)	<i>dibutylftalaat</i> (65)
rhodamine B (32)	<i>n-butylacetaat</i> (70)
<i>acetanilide</i> (33)	
<i>1, 2, 4-trichloorbenzeen</i> (48)	
aniline (49)	
bifenyl (54)	
<i>pentachloorbenzeen</i> (56)	
<i>o-cresol</i> (67)	
<i>m-cresol</i> (69)	
<i>β-naftol</i> (88)	
<i>triazofos</i> (85)	
2-chlooraniline (> 32)	

Weinig giftig (EC50 100–1000)

In grond		In voedingsoplossing	
<i>naftaleen</i>	(100)	<i>pyridine</i>	(110)
<i>diethylftalaat</i>	(110)	<i>trypaan-blauw</i>	(113)
<i>1, 3, 5-trichloorbenzeen</i>	(120)	<i>furaan</i>	(130)
<i>pyridine</i>	(140)		
<i>fenol</i>	(150)		
<i>1, 4-dichloorbenzeen</i>	(210)		
<i>trypaan-blauw</i>	(260)		
<i>isobutylalcohol</i>	(350)		
<i>azinfosmethyl</i>	(360)		
<i>dibutylftalaat</i>	(390)		
<i>pentachlooraniline</i>	(470)		
<i>benzaldehyde</i>	(560)		
<i>furaan</i>	(620)		

Zeer weinig giftig (EC50 >1000)

In grond		In voedingsoplossing	
<i>monochloorbenzeen</i>	(1000)	geen van de stoffen	
<i>n-butylacetaat</i>	(1300)		
<i>hexachloorbenzeen</i>	(2000)		
<i>diethylhexylftalaat</i>	(>1000)		
<i>heptaan</i>	(>1000)		
<i>octaan</i>	(>1000)		
<i>decaan</i>	(>1000)		
<i>tolueen</i>	(>1000)		
<i>2, 5-diaminotolueensulfaat</i>	(>1000)		
<i>endosulfan</i>	(>1000)		

5. REFERENTIES

- [1] Adema, D.M.M. en L. Henzen (1986)
De invloed van tien milieugevaarlijke stoffen op de groei van drie soorten hogere planten.
TNO rapportnr. R 86/181a.
- [2] Adema, D.M.M. and L. Henzen (1989)
A comparison of plant toxicities of some industrial chemicals in soil culture and soilless culture.
Ecotox. and Environ. Safety 18, 219-229.
- [3] Hulzebos, E.M., E.M. Dirven-van Breemen, W.A. van Dis, C.A.M. van Gestel, H.A. Herbold, R. Baerselman en M. Stolk (1989)
Toxiciteit van 45 prioritaire organische stoffen voor sla (*Lactuca sativa*)
Eindrapport van het RIVM-aandeel in het project Fytotoxiciteit 2
Rijksinstituut voor Volksgezondheid en Milieuhygiëne, Bilthoven,
Rapportnr. 718710002.
- [4] The Pesticide Manual 8th edition
The British Crop Protection Council.
- [5] Könemann, W.H. (1979)
Quantitative structure-activity relationship for kinetics and toxicity of aquatic pollutants and their mixtures in fish (proefschrift).
- [6] Verschueren, 2nd edition
Handbook of Environmental data on organic chemicals
Van Nostrand Reinhold Company, New York.
- [7] Hazardous Substances Data Bank (HSDB).
- [8] Information System for Hazardous organics in water (ISHOW).

- [9] Steiner, A.A.
Soilless Culture
Reprint from: Proceedings of the 6th Colloquium of the International
Potash Institute
Florence/Italy 1986.

- [10] OECD Guideline 208 (1984)
Terrestrial Plants, growth test.

- [11] Kooijman, S.A.L.M., A.O. Hanstveit and H. Oldersma
Parametric analysis of population growth in bioassays
Water Research, 17, 527-538 (1983).

BIJLAGE 1 SAMENSTELLING VAN DE LANDBOUWGROND (PARTIJ LG-4)

<i>Samenstelling minerale delen</i>		<i>%</i>
0 -2	µm	11,5
2-16	µm	7,9
16-50	µm	15,0
50-105	µm	23,5
105-150	µm	19,7
150-2000	µm	22,4

in % op droge stof

Organisch stof	1,4
CaCO ₃	9,8
Afslibbaar	17,1
Zand	71,7

pH-KCl 7,5

Bepaald door "Bedrijfslaboratorium voor grond- en gewasonderzoek", Mariendaal, Oosterbeek.

BIJLAGE 2 SAMENSTELLING VAN DE LANDBOUWGROND (PARTIJ LG-5)

<i>Samenstelling minerale delen</i>		<i>%</i>
0 -2	µm	21,0
2-16	µm	15,6
16-50	µm	17,6
50-105	µm	12,6
105-150	µm	19,1
150-2000	µm	14,1

in % op droge stof

Organisch stof	1,8
CaCO ₃	9,7
Afslibbaar	32,4
Zand	56,1
pH-KCl	7,5

Bepaald door "Bedrijfslaboratorium voor grond- en gewasonderzoek", Mariendaal, Oosterbeek.

BIJLAGE 3 SAMENSTELLING VAN DE VOEDINGSOPLOSSING VOLGENS STEINER

De voedingsoplossing volgens Steiner werd bereid op basis van grondwater uit Linschoten (Steiner bereidt deze voedingsoplossing op basis van Wagenings leidingwater).

Aan grondwater wordt per liter toegevoegd: 10 ml van de oplossingen A en B en 1 ml van de oplossingen C en D. Deze gereede oplossing wordt vervolgens 12 h belucht, waarna de pH wordt gemeten en zonodig met H_2SO_4 gebracht op $6,5 \pm 0,1$. Hiervoor mag niet meer dan 158 μl geconc. H_2SO_4 gebruikt worden per 1 voedingsoplossing.

Oplossing A 68 g $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$
 62 g KNO_3
 1 l grondwater uit Linschoten

Oplossing B 46 g $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$
 13,6 g KH_2PO_4
 1 l grondwater uit Linschoten

Oplossing C 2,69 g H_3BO_3
 2,00 g $\text{MnSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$
 0,506 g $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$
 0,126 g $\text{Na}_2\text{MoO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$
 0,078 g $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$
 1 l grondwater uit Linschoten

Oplossing D1 16,659 g komplexon III ($\text{C}_{16}\text{H}_{14}\text{O}_8\text{N}_2\text{Na}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$)
 2,91 g KOH
 500 ml ged. water

Oplossing D2 12,44 g $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$
 2 ml 0,5 M H_2SO_4
 200 ml ged. water

Oplossing D 500 ml D1 + 200 ml D2 aanvullen tot 900 ml met ged. water ca. 16 h beluchten en aanvullen tot 1 l met ged. water.

BIJLAGE 4 RUWE DATA VAN DE PLANTENTOETSEN IN GROND EN VOEDINGSOPLOSSING

Ruwe data van plantentoetsen in grond (gegeven zijn in de opeenvolgende kolommen: de concentratie van de stof, het gemiddeld gewich per plantje, de standaardafwijking en het bijbehorende aantal plantjes).

2-chlooraniline							
na 7 dagen				na 13 dagen			
0	0,061	0,008	10	0	0,475	0,04	10
0,32	0,072	0,012	10	0,32	0,47	0,059	10
1	0,063	0,007	10	1	0,47	0,049	10
3,2	0,074	0,009	10	3,2	0,454	0,061	10
10	0,063	0,01	10	10	0,427	0,078	10
32	0,053	0,012	10	32	0,371	0,088	10
100	0	0	0	100	0	0	0
320	0	0	0	320	0	0	0
1000	0	0	0	1000	0	0	0

3-chlooraniline							
na 7 dagen				na 14 dagen			
0	0,055	0,01	10	0	0,567	0,095	10
0,32	0,062	0,009	10	0,32	0,584	0,115	10
1	0,053	0,006	10	1	0,532	0,073	10
3,2	0,057	0,008	10	3,2	0,463	0,078	10
10	0,038	0,006	10	10	0,383	0,089	10
32	0,016	0,004	10	32	0,132	0,013	10
100	0	0	0	100	0,024	0,007	10

2,4-dichlooraniline							
na 7 dagen				na 14 dagen			
0	0,068	0,008	10	0	0,7	0,089	10
3,2	0,063	0,006	10	3,2	0,649	0,095	10
10	0,054	0,013	10	10	0,596	0,092	10
32	0,034	0,003	10	32	0,318	0,062	10
100	0	0	0	100	0	0	0
320	0	0	0	320	0	0	0
1000	0	0	0	1000	0	0	0

3,4-dichlooraniline							
na 7 dagen				na 14 dagen			
0	0,058	0,006	10	0	0,615	0,066	10
0,32	0,056	0,005	10	0,32	0,528	0,107	10
1	0,057	0,007	10	1	0,591	0,102	10
3,2	0,045	0,009	10	3,2	0,469	0,066	10
10	0,037	0,005	10	10	0,433	0,083	10
32	0	0	0	32	0	0	0
100	0	0	0	100	0	0	0

3,5-dichlooraniline							
na 7 dagen				na 15 dagen			
0	0,062	0,007	10	0	0,66	0,112	10
0,32	0,055	0,007	10	0,32	0,684	0,109	10
1	0,059	0,012	10	1	0,641	0,1	10
3,2	0,061	0,011	10	3,2	0,547	0,087	10
10	0,038	0,006	10	10	0,424	0,103	10
32	0,017	0,005	7	32	0,078	0,058	6
100	0	0	0	100	0	0	0
320	0	0	0	320	0	0	0
1000	0	0	0	1000	0	0	0

2,4,5-trichlooraniline							
na 7 dagen				na 14 dagen			
0	0,057	0,01	10	0	0,451	0,057	10
3,2	0,057	0,009	10	3,2	0,447	0,053	10
10	0,044	0,009	10	10	0,353	0,05	10
32	0,025	0,011	10	32	0,091	0,024	10
100	0	0	0	100	0	0	0
320	0	0	0	320	0	0	0
1000	0	0	0	1000	0	0	0

2,4,6-trichlooraniline							
na 7 dagen				na 14 dagen			
0	0,053	0,012	10	0	0,545	0,061	10
1	0,057	0,008	10	1	0,58	0,081	10
3,2	0,052	0,009	10	3,2	0,578	0,085	10
10	0,04	0,008	10	10	0,481	0,108	10
32	0,027	0,007	10	32	0,197	0,023	9
100	0,008	0,003	10	100	0,038	0,01	10
320	0	0	0	320	0	0	0

2,3,4,5-tetrachlooraniline							
na 7 dagen				na 14 dagen			
0	0,062	0,008	10	0	0,519	0,062	10
3,2	0,056	0,007	10	3,2	0,507	0,076	10
10	0,056	0,012	10	10	0,46	0,06	10
32	0,041	0,006	10	32	0,174	0,036	10
100	0,01	0,004	10	100	0,022	0	1
320	0	0	0	320	0	0	0
1000	0	0	0	1000	0	0	0

2,3,5,6-tetrachlooraniline							
na 7 dagen				na 14 dagen			
0	0,059	0,004	10	0	0,536	0,091	10
3,2	0,056	0,011	10	3,2	0,506	0,056	10
10	0,044	0,006	10	10	0,33	0,055	10
32	0,036	0,008	10	32	0,152	0,019	10
100	0,021	0,006	10	100	0,078	0,016	9
320	0,02	0,004	10	320	0,055	0,019	9
1000	0,015	0,005	10	1000	0,045	0,009	9

pentachlooraniline							
na 7 dagen				na 14 dagen			
0	0,067	0,011	10	0	0,522	0,055	10
3,2	0,056	0,008	10	3,2	0,484	0,052	10
10	0,062	0,007	10	10	0,495	0,057	10
32	0,05	0,005	10	32	0,389	0,05	10
100	0,041	0,007	10	100	0,312	0,044	10
320	0,036	0,005	10	320	0,307	0,053	10
1000	0,034	0,006	10	1000	0,233	0,034	10

monochloorbenzeen							
na 7 dagen				na 14 dagen			
0	0,081	0,012	10	0	0,686	0,105	10
0,1	0,079	0,011	10	0,1	0,685	0,077	10
0,32	0,07	0,011	10	0,32	0,657	0,085	10
1	0,065	0,014	10	1	0,615	0,107	10
3,2	0,065	0,013	10	3,2	0,656	0,09	10
10	0,051	0,007	10	10	0,509	0,107	10
32	0,056	0,011	10	32	0,53	0,088	10
100	0,063	0,01	10	100	0,604	0,034	10
320	0,051	0,008	10	320	0,619	0,089	10
1000	0,056	0,011	10	1000	0,634	0,094	10

1,4-dichloorbenzeen							
na 7 dagen				na 14 dagen			
0	0,062	0,009	10	0	0,549	0,12	10
0,1	0,073	0,007	10	0,1	0,57	0,086	10
0,32	0,059	0,011	10	0,32	0,495	0,052	10
1	0,052	0,006	10	1	0,513	0,04	10
3,2	0,065	0,009	10	3,2	0,553	0,059	10
10	0,061	0,007	10	10	0,499	0,081	10
32	0,048	0,009	10	32	0,546	0,083	10
100	0,043	0,008	10	100	0,49	0,069	10
320	0,027	0,007	10	320	0,178	0,041	10
1000	0,012	0,003	10	1000	0,035	0,01	10

1,2,3-trichloorbenzeen							
na 7 dagen				na 14 dagen			
0	0,052	0,007	10	0	0,511	0,061	10
1	0,05	0,008	10	1	0,473	0,069	10
3,2	0,037	0,006	10	3,2	0,317	0,042	10
10	0,014	0,004	10	10	0,015	0,006	8
32	0,011	0,003	10	32	0,018	0,006	7
100	0	0	0	100	0	0	0
320	0	0	0	320	0	0	0
1000	0	0	0	1000	0	0	0

1,2,4-trichloorbenzeen							
na 7 dagen				na 14 dagen			
0	0,064	0,01	10	0	0,806	0,063	10
0,32	0,062	0,018	10	0,32	0,889	0,078	10
1	0,07	0,003	10	1	0,838	0,066	10
3,2	0,073	0,007	10	3,2	0,949	0,084	9
10	0,06	0,008	10	10	0,726	0,096	10
32	0,039	0,005	10	32	0,556	0,061	10
100	0,026	0,004	10	100	0,238	0,037	9
320	0,012	0,003	3	320	0,061	0,017	5

1,3,5-trichloorbenzeen							
na 7 dagen				na 14 dagen			
0	0,073	0,009	10	0	0,75	0,063	10
0,32	0,071	0,008	10	0,32	0,69	0,077	10
1	0,065	0,009	10	1	0,679	0,069	10
3,2	0,062	0,009	10	3,2	0,568	0,137	10
10	0,064	0,007	10	10	0,601	0,104	10
32	0,059	0,011	10	32	0,731	0,068	10
100	0,036	0,007	10	100	0,426	0,064	10
320	0,015	0,003	10	320	0,059	0,026	10

1,2,3,4-tetrachloorbenzeen							
na 7 dagen				na 14 dagen			
0	0,059	0,01	10	0	0,694	0,115	10
1	0,069	0,007	10	1	0,728	0,072	10
3,2	0,068	0,011	10	3,2	0,65	0,076	10
10	0,046	0,006	10	10	0,574	0,071	10
32	0,037	0,006	10	32	0,358	0,033	10
100	0,03	0,005	10	100	0,136	0,023	10
320	0,018	0,002	10	320	0,052	0,007	10
1000	0,012	0,004	10	1000	0,037	0,012	10

1,2,4,5-tetrachloorbenzeen							
na 7 dagen				na 14 dagen			
0	0,07	0,01	10	0	0,652	0,052	10
1	0,057	0,009	10	1	0,392	0,06	10
3,2	0,033	0,005	10	3,2	0,146	0,024	10
10	0,022	0,003	10	10	0,072	0,02	10
32	0,017	0,003	10	32	0,046	0,012	10
100	0,018	0,006	10	100	0,03	0,009	10
320	0,015	0,004	10	320	0,027	0,004	10
1000	0,013	0,002	10	1000	0,022	0,003	9

pentachloorbenzeen							
na 7 dagen				na 14 dagen			
0	0,068	0,012	10	0	0,647	0,107	10
1	0,062	0,014	10	1	0,659	0,034	10
3,2	0,058	0,009	10	3,2	0,627	0,082	10
10	0,049	0,01	10	10	0,505	0,152	10
32	0,042	0,012	10	32	0,399	0,048	10
100	0,033	0,006	10	100	0,238	0,032	10
320	0,034	0,006	10	320	0,167	0,023	10
1000	0,032	0,007	10	1000	0,148	0,018	10

hexachloorbenzeen							
na 7 dagen				na 14 dagen			
0	0,072	0,008	10	0	0,639	0,065	10
3,2	0,067	0,006	10	3,2	0,652	0,056	10
10	0,063	0,009	10	10	0,586	0,069	10
32	0,053	0,004	10	32	0,61	0,076	10
100	0,057	0,004	10	100	0,643	0,079	10
320	0,045	0,016	10	320	0,529	0,083	10
1000	0,042	0,009	10	1000	0,525	0,117	10

1-chloor-2-nitrobenzeen							
na 7 dagen				na 14 dagen			
0	0,061	0,01	10	0	0,586	0,054	10
1	0,053	0,008	10	1	0,576	0,067	10
3,2	0,042	0,007	10	3,2	0,457	0,09	10
10	0,012	0,003	10	10	0,106	0,024	10
32	0	0	0	32	0,022	0,006	3
100	0	0	0	100	0	0	0
320	0	0	0	320	0	0	0
1000	0	0	0	1000	0	0	0

1-chloor-3-nitrobenzeen							
na 6 dagen				na 14 dagen			
0	0,099	0,011	10	0	0,686	0,053	10
0,1	0,099	0,009	10	0,1	0,736	0,079	10
0,32	0,104	0,01	10	0,32	0,728	0,043	10
1	0,102	0,01	10	1	0,735	0,067	10
3,2	0,095	0,009	10	3,2	0,728	0,068	10
10	0,051	0,008	10	10	0,399	0,044	10
32	0,025	0,005	10	32	0,103	0,014	10
100	0	0	0	100	0,016	0,006	10

fenol							
na 7 dagen				na 14 dagen			
0	0,054	0,011	10	0	0,442	0,048	10
1	0,061	0,008	10	1	0,396	0,042	10
3,2	0,055	0,008	10	3,2	0,434	0,058	10
10	0,057	0,009	10	10	0,447	0,055	10
32	0,055	0,012	10	32	0,392	0,051	10
100	0,037	0,005	10	100	0,32	0,028	10
320	0,012	0,003	10	320	0,09	0,022	10

o-cresol							
na 7 dagen				na 14 dagen			
0	0,06	0,009	10	0	0,359	0,07	10
1	0,068	0,008	10	1	0,362	0,064	10
3,2	0,047	0,007	10	3,2	0,279	0,051	9
10	0,055	0,004	10	10	0,302	0,054	10
32	0,046	0,008	10	32	0,329	0,074	10
100	0,02	0,005	10	100	0,21	0,026	10
320	0	0	0	320	0	0	0

m-cresol							
na 7 dagen				na 14 dagen			
0	0,052	0,0057	10	0	0,405	0,041	10
1	0,051	0,005	10	1	0,412	0,06	10
3,2	0,047	0,006	10	3,2	0,356	0,074	10
10	0,042	0,004	10	10	0,315	0,059	10
32	0,033	0,007	10	32	0,317	0,05	10
100	0,023	0,005	10	100	0,193	0,044	10
320	0	0	0	320	0,026	0	1

2,3,5-trichloorfenol							
na 7 dagen				na 14 dagen			
0	0,075	0,013	10	0	0,673	0,153	10
0,32	0,072	0,012	10	0,32	0,653	0,092	10
1	0,063	0,011	10	1	0,574	0,106	10
3,2	0,056	0,01	10	3,2	0,62	0,115	10
10	0,034	0,006	10	10	0,263	0,054	10
32	0,014	0,005	10	32	0,049	0,021	8
100	0	0	0	100	0	0	0
320	0	0	0	320	0	0	0

pentachloorfenol							
na 7 dagen				na 14 dagen			
0	0,074	0,009	10	0	0,752	0,108	10
0,32	0,069	0,01	10	0,32	0,676	0,095	10
1	0,056	0,009	10	1	0,606	0,075	10
3,2	0,035	0,01	10	3,2	0,375	0,039	10
10	0,011	0,004	10	10	0,103	0,047	10
32	0,009	0,003	10	32	0,015	0,005	10
100	0	0	0	100	0	0	0
320	0	0	0	320	0	0	0

β -naftol							
na 6 dagen				na 14 dagen			
0	0,107	0,008	10	0	0,772	0,067	10
0,32	0,102	0,011	10	0,32	0,718	0,027	10
1	0,104	0,006	10	1	0,694	0,072	10
3,2	0,098	0,009	10	3,2	0,738	0,072	10
10	0,096	0,014	10	10	0,664	0,063	10
32	0,085	0,011	10	32	0,503	0,09	10
100	0,074	0,01	10	100	0,355	0,043	10
320	0,049	0,006	10	320	0,194	0,04	10

benzaldehyde							
na 7 dagen				na 14 dagen			
0	0,081	0,005	10	0	0,81	0,086	10
1	0,081	0,011	10	1	0,787	0,062	10
3,2	0,078	0,007	10	3,2	0,801	0,119	10
10	0,085	0,01	10	10	0,862	0,053	10
32	0,084	0,008	10	32	0,85	0,092	10
100	0,074	0,006	10	100	0,848	0,052	10
320	0,065	0,009	10	320	0,669	0,104	10
1000	0,016	0,007	9	1000	0,216	0,088	10

n-butylacetaat							
na 7 dagen				na 14 dagen			
0	0,054	0,009	10	0	0,463	0,074	10
3,2	0,049	0,006	10	3,2	0,356	0,041	10
10	0,054	0,007	10	10	0,373	0,049	10
32	0,05	0,012	10	32	0,415	0,059	10
100	0,05	0,008	10	100	0,399	0,062	10
320	0,04	0,005	10	320	0,287	0,036	10
1000	0,03	0,008	10	1000	0,243	0,043	10

isobutylalcohol							
na 6 dagen				na 14 dagen			
0	0,107	0,007	10	0	0,704	0,044	10
3,2	0,109	0,01	10	3,2	0,7	0,076	10
10	0,099	0,012	10	10	0,692	0,059	10
32	0,104	0,011	10	32	0,727	0,048	10
100	0,102	0,011	10	100	0,651	0,089	10
320	0,056	0,005	10	320	0,424	0,061	10
1000	0,019	0,005	3	1000	0,016	0,007	8

diethylfataat							
na 7 dagen				na 14 dagen			
0	0,125	0,013	10	0	1,471	0,243	10
1	0,134	0,015	10	1	1,577	0,159	10
3,2	0,126	0,01	10	3,2	1,504	0,189	10
10	0,134	0,02	10	10	1,636	0,128	10
32	0,116	0,013	10	32	1,502	0,182	10
100	0,064	0,015	10	100	0,994	0,155	10
320	0,032	0,004	4	320	0,231	0,108	8
1000	0	0	0	1000	0	0	0

dibutylftalaat							
na 7 dagen				na 14 dagen			
0	0,086	0,007	10	0	0,802	0,061	10
1	0,085	0,007	10	1	0,841	0,089	10
3,2	0,097	0,009	10	3,2	0,76	0,068	10
10	0,088	0,008	10	10	0,811	0,059	10
32	0,071	0,015	10	32	0,776	0,124	10
100	0,056	0,011	10	100	0,69	0,083	10
320	0,048	0,011	10	320	0,652	0,074	10
1000	0,038	0,06	10	1000	0,529	0,085	10

diethylhexylftalaat							
na 7 dagen				na 14 dagen			
0	0,124	0,009	10	0	1,044	0,085	10
3,2	0,126	0,011	10	3,2	1,072	0,096	10
10	0,129	0,01	10	10	1,089	0,069	10
32	0,129	0,014	10	32	1,189	0,13	10
100	0,13	0,012	10	100	1,171	0,115	10
320	0,132	0,012	10	320	1,23	0,071	10
1000	0,112	0,01	10	1000	0,976	0,15	10

furaan							
na 7 dagen				na 14 dagen			
0	0,092	0,009	10	0	0,988	0,067	10
1	0,096	0,01	10	1	1,125	0,098	10
3,2	0,096	0,005	10	3,2	1,103	0,102	10
10	0,098	0,007	10	10	1,111	0,095	10
32	0,097	0,008	10	32	1,035	0,11	10
100	0,086	0,013	10	100	1,139	0,12	10
320	0,079	0,01	10	320	0,974	0,077	10
1000	0,042	0,009	10	1000	0,179	0,044	10

heptaan							
na 7 dagen				na 14 dagen			
0	0,097	0,008	10	0	0,994	0,103	10
3,2	0,103	0,015	10	3,2	1,098	0,118	10
10	0,103	0,01	10	10	1,168	0,119	10
32	0,107	0,006	10	32	1,172	0,141	10
100	0,111	0,01	10	100	1,112	0,103	10
320	0,11	0,017	10	320	1,175	0,092	10
1000	0,112	0,013	10	1000	1,254	0,145	10

octaan							
na 7 dagen				na 14 dagen			
0	0,085	0,005	10	0	0,892	0,081	10
1	0,085	0,008	10	1	0,832	0,107	10
3,2	0,083	0,005	10	3,2	0,9	0,097	10
10	0,083	0,017	10	10	0,953	0,126	10
32	0,091	0,007	10	32	0,977	0,104	10
100	0,082	0,01	10	100	0,913	0,061	10
320	0,081	0,013	10	320	0,846	0,153	10
1000	0,077	0,006	10	1000	0,871	0,054	10

decaan							
na 7 dagen				na 14 dagen			
0	0,126	0,013	10	0	1,556	0,149	10
1	0,139	0,021	10	1	1,5	0,204	10
3,2	0,134	0,012	10	3,2	1,504	0,183	10
10	0,131	0,018	10	10	1,514	0,168	10
32	0,124	0,008	10	32	1,451	0,187	10
100	0,077	0,01	10	100	1,132	0,208	10
320	0,094	0,012	10	320	1,239	0,217	10
1000	0,096	0,011	10	1000	1,118	0,269	10

tolueen							
na 7 dagen				na 14 dagen			
0	0,05	0,005	10	0	0,36	0,049	10
3,2	0,041	0,008	10	3,2	0,324	0,036	10
10	0,045	0,005	10	10	0,376	0,043	10
32	0,046	0,004	10	32	0,308	0,043	10
100	0,04	0,006	10	100	0,337	0,042	10
320	0,034	0,005	10	320	0,286	0,045	10
100	0,031	0,005	10	100	0,286	0,04	10

naftaleen							
na 6 dagen				na 14 dagen			
0	0,059	0,009	10	0	0,343	0,037	10
0,32	0,069	0,008	10	0,32	0,36	0,045	10
1	0,065	0,011	10	1	0,335	0,063	10
3,2	0,061	0,01	10	3,2	0,348	0,082	10
10	0,066	0,009	10	10	0,356	0,046	10
32	0,061	0,009	10	32	0,291	0,086	10
100	0,039	0,008	10	100	0,308	0,046	10

bifenyl							
na 6 dagen				na 14 dagen			
0	0,067	0,011	10	0	0,358	0,053	10
1	0,068	0,011	10	1	0,363	0,049	10
3,2	0,068	0,008	10	3,2	0,399	0,055	10
10	0,066	0,007	10	10	0,373	0,048	10
32	0,035	0,014	10	32	0,294	0,073	10
100	0,027	0,009	10	100	0,12	0,01	10
320	0,015	0,004	10	320	0,058	0,011	8

aniline							
na 7 dagen				na 14 dagen			
0	0,078	0,009	10	0	0,845	0,074	10
1	0,077	0,01	10	1	0,825	0,035	10
3,2	0,079	0,011	10	3,2	0,828	0,091	10
10	0,076	0,008	10	10	0,77	0,098	9
32	0,054	0,01	10	32	0,557	0,052	10
100	0,016	0,004	10	100	0,264	0,064	10
320	0,004	0,001	10	320	0,112	0,039	10
1000	0	0	0	1000	0,034	0,011	10

aceetanilide							
na 7 dagen				na 14 dagen			
0	0,066	0,007	10	0	0,625	0,051	9
0,32	0,067	0,012	10	0,32	0,598	0,073	10
1	0,06	0,009	10	1	0,523	0,099	10
3,2	0,053	0,011	10	3,2	0,55	0,049	10
10	0,056	0,014	10	10	0,476	0,092	10
32	0,035	0,007	10	32	0,314	0,05	10
100	0,014	0,005	10	100	0,107	0,044	10
320	0	0	0	320	0,06	0,006	10

pyridine							
na 7 dagen				na 14 dagen			
0	0,085	0,007	10	0	0,819	0,071	10
1	0,078	0,008	10	1	0,802	0,061	10
3,2	0,081	0,011	10	3,2	0,804	0,063	10
10	0,08	0,006	10	10	0,802	0,084	10
32	0,075	0,008	10	32	0,784	0,082	10
100	0,049	0,006	10	100	0,647	0,074	10
320	0,017	0,004	8	320	0,217	0,131	10
1000	0,014	0,003	9	1000	0,122	0,035	10

1,2-diaminobenzeen							
na 7 dagen				na 14 dagen			
0	0,077	0,006	10	0	1,051	0,056	10
0,32	0,079	0,008	10	0,32	1,13	0,096	10
10	0,078	0,011	10	10	1,147	0,114	10
32	0,019	0,004	10	32	0,166	0,09	10
100	0,007	0,001	9	100	0,015	0,007	10
320	0,006	0,002	5	320	0,008	0,004	4
1000	0	0	0	1000	0	0	0

2,5-diaminotolueensulfaat							
na 7 dagen				na 14 dagen			
0	0,087	0,012	10	0	1,038	0,1	10
3,2	0,084	0,01	10	3,2	1,144	0,087	10
10	0,085	0,005	10	10	1,183	0,121	10
32	0,086	0,008	10	32	1,217	0,156	10
100	0,082	0,008	10	100	1,204	0,093	10
320	0,078	0,011	9	320	1,24	0,115	10
1000	0,075	0,009	10	1000	1,129	0,142	10

rhodamine B							
na 8 dagen				na 15 dagen			
0	0,087	0,011	10	0	0,693	0,094	10
3,2	0,083	0,008	10	3,2	0,697	0,076	10
10	0,085	0,008	10	10	0,622	0,127	10
32	0,064	0,016	10	32	0,357	0,096	10
100	0,032	0,006	10	100	0,069	0,017	10
320	0,019	0,008	10	320	0,038	0,014	10
1000	0,013	0,006	10	1000	0,027	0,011	10
3200	0,006	0,002	10	3200	0,013	0,008	6

trypaan blauw							
na 7 dagen				na 14 dagen			
0	0,074	0,007	10	0	0,663	0,063	10
3,2	0,07	0,011	10	3,2	0,708	0,106	10
10	0,069	0,011	10	10	0,664	0,065	10
32	0,057	0,011	10	32	0,635	0,093	10
100	0,058	0,013	10	100	0,603	0,134	10
320	0,03	0,01	10	320	0,305	0,087	10
1000	0,014	0,006	10	1000	0,03	0,015	8
3200	0,008	0,002	10	3200	0,012	0,007	9

azinfosmethyl							
na 7 dagen				na 14 dagen			
0	0,092	0,007	10	0	0,927	0,103	10
3,2	0,093	0,008	10	3,2	0,986	0,097	10
10	0,09	0,009	10	10	1,009	0,101	10
32	0,087	0,008	10	32	1,008	0,097	10
100	0,082	0,007	10	100	0,807	0,136	10
320	0,067	0,004	10	320	0,41	0,038	10
1000	0,059	0,014	10	1000	0,366	0,043	10

endosulfan							
na 7 dagen				na 14 dagen			
0	0,113	0,006	10	0	1,192	0,238	10
100	0,107	0,013	10	100	1,193	0,095	10
320	0,105	0,014	10	320	1,098	0,076	10
1000	0,091	0,01	10	1000	0,962	0,118	10

triazofos							
na 7 dagen				na 14 dagen			
0	0,127	0,012	10	0	1,403	0,122	10
100	0,077	0,007	10	100	0,634	0,088	10
320	0,054	0,009	10	320	0,16	0,028	10
1000	0,046	0,007	10	1000	0,126	0,022	10

Ruwe data van plantentoetsen in voedingsoplossing (gegeven zijn respectievelijk de concentratie, het gemiddeld gewicht per plantje, de standaardafwijkingen en het bijbehorend aantal plantjes.

2-chlooraniline				3-chlooraniline			
0	1,234	0,109	10	0	1,24	0,163	10
0,1	1,251	0,066	10	0,1	1,277	0,118	10
0,32	1,237	0,118	10	0,32	1,133	0,165	10
1	1,179	0,055	10	1	1,028	0,111	10
3,2	1,182	0,114	9	3,2	0,909	0,129	10
10	0,977	0,076	10	10	0,366	0,057	10
32	0,61	0,102	10	32	0,049	0,015	10

2,4-dichlooraniline				3,4-dichlooraniline			
0	0,935	0,17	10	0	0,914	0,113	10
0,032	1,11	0,082	10	0,032	0,85	0,105	10
0,1	0,933	0,076	10	0,1	0,892	0,108	10
0,32	1,129	0,149	10	0,32	0,884	0,104	10
1	0,954	0,082	10	1	0,74	0,076	10
3,2	0,789	0,212	10	3,2	0,101	0,026	10
10	0,377	0,083	10	10	0,012	0,044	10

3,5-dichlooraniline				2,4,5-trichlooraniline			
0	0,786	0,087	10	0	0,803	0,1	10
0,032	0,77	0,125	10	0 *	0,737	0,064	10
0,1	0,703	0,112	10	0,032	0,874	0,054	10
0,32	0,895	0,127	10	0,1	0,783	0,068	10
1	0,737	0,087	10	0,32	0,717	0,075	10
3,2	0,595	0,078	10	1	0,498	0,065	10
10	0,109	0,024	10	3,2	0,142	0,043	10
				10	0,01	0,006	2

2,4,6-trichlooraniline				2,3,4,5-tetrachlooraniline			
0	1,014	0,093	10	0	0,88	0,105	10
0 *	0,991	0,098	10	0 *	0,868	0,111	10
0,032	0,933	0,092	10	0,032	0,859	0,133	10
0,1	0,936	0,091	10	0,1	0,841	0,094	10
0,32	1,009	0,068	10	0,32	0,478	0,038	10
1	0,928	0,148	10	1	0,182	0,021	10
3,2	0,514	0,049	10	3,2	0,048	0,008	10
10	0,109	0,01	10	10	0,011	0,002	2

* oplosmiddel blanco's

2,3,5,6-tetrachlooraniline				pentachlooraniline			
0	0,917	0,133	10	0	0,961	0,104	10
0 *	0,986	0,074	10	0 *	0,889	0,049	10
0,032	0,994	0,118	10	0,01	0,962	0,11	10
0,1	0,913	0,118	10	0,032	0,942	0,069	10
0,32	0,68	0,07	10	0,1	0,851	0,072	10
1	0,37	0,047	10	0,32	0,702	0,078	10
3,2	0,125	0,021	10	1	0,601	0,087	10

monochloorbenzeen				1,4-dichloorbenzeen			
0	0,893	0,282	10	0	0,732	0,24	10
0,32	0,959	0,109	10	0 *	0,752	0,174	10
1	0,906	0,114	10	0,1	0,748	0,167	10
3,2	0,813	0,081	10	0,32	0,95	0,055	10
10	0,404	0,032	10	1	0,798	0,093	10
32	0,152	0,028	10	3,2	0,59	0,048	10
100	0,095	0,022	10	10	0,163	0,03	10
320	0,058	0,016	8				

1,2,3-trichloorbenzeen				1,2,4-trichloorbenzeen			
0	0,666	0,105	10	0	1,112	0,059	10
0 *	0,665	0,147	10	0 *	1,09	0,092	10
0,0032	0,719	0,104	10	0,1	0,947	0,101	10
0,01	0,543	0,071	10	0,32	0,731	0,068	10
0,032	0,312	0,041	10	1	0,403	0,041	10
0,1	0,121	0,023	10	3,2	0,123	0,02	10
0,32	0,075	0,025	9	10	0,077	0,026	10

1,3,5-trichloorbenzeen				1,2,3,4-tetrachloorbenzeen			
0	0,799	0,151	10	0	0,841	0,127	10
0 *	0,977	0,105	10	0 *	0,732	0,064	10
0,032	1,023	0,11	10	0,032	0,775	0,085	10
0,1	0,938	0,109	10	0,1	0,703	0,056	10
0,32	0,87	0,102	10	0,32	0,546	0,129	10
1	0,622	0,143	10	1	0,249	0,039	10
3,2	0,426	0,053	10	3,2	0,109	0,023	10
10	0,195	0,048	10	10	0,064	0,012	10

* oplosmiddel blanco's

1,2,4,5-tetrachloorbenzeen				pentachloorbenzeen			
0	1,065	0,059	10	0	0,825	0,177	10
0 *	1,059	0,095	10	0 *	0,956	0,084	10
0,01	1,05	0,101	10	0,01	0,972	0,052	10
0,032	0,69	0,072	10	0,032	0,897	0,139	10
0,1	0,437	0,057	10	0,1	1,045	0,08	10
0,32	0,234	0,055	10	0,32	0,71	0,132	10
1	0,144	0,024	10	1	0,517	0,068	10

hexachloorbenzeen				1-chloor-2-nitrobenzeen			
0	1,348	0,097	10	0	1,178	0,09	10
0 *	1,25	0,166	10	0,01	1,219	0,108	10
0,01	1,239	0,088	10	0,032	1,209	0,119	10
0,032	1,386	0,122	10	0,1	1,32	0,084	10
0,1	1,378	0,132	10	0,32	1,22	0,128	10
0,32	1,397	0,101	10	1	0,965	0,105	10
				3,2	0,282	0,092	10

1-chloor-3-nitrobenzeen				fenol			
0	1,035	0,095	10	0	2,551	0,306	12
0,032	0,984	0,094	10	1	2,807	0,681	12
0,1	1,029	0,083	10	3,2	1,692	1,286	12
0,32	0,995	0,081	10	10	1,776	0,569	12
1	0,931	0,082	10	32	0,728	0,198	12
3,2	0,747	0,097	10	100	0,393	0,109	12
10	0,087	0,012	10				
32	0,037	0,004	10				

o-cresol				m-cresol			
0	2,692	0,521	12	0	0,882	0,081	10
1	2,103	0,81	12	0,32	0,92	0,102	10
3,2	2,545	0,371	12	1	0,828	0,087	10
10	1,76	0,243	12	3,2	0,774	0,145	10
32	1,026	0,258	12	10	0,698	0,086	10
100	0,308	0,102	12	32	0,63	0,126	10
				100	0,16	0,038	10

* oplosmiddel blanco's

2,3,5-trichloorfenol				pentachloorfenol			
0	1,106	0,094	10	0	0,784	0,161	10
0,032	0,923	0,152	10	0,0032	0,863	0,126	10
0,1	0,923	0,122	10	0,01	0,616	0,125	10
0,32	0,719	0,101	10	0,032	0,393	0,095	10
1	0,534	0,06	10	0,1	0,13	0,038	10
3,2	0,059	0,012	10	0,32	0,044	0,011	10
10	0,023	0,016	10	1	0,033	0,01	10

β -naftol				benzaldehyde			
0	1,264	0,142	10	0	1,141	0,082	10
0,1	0,981	0,085	10	0,32	1,098	0,064	10
0,32	0,998	0,092	10	1	1,12	0,089	10
1	0,968	0,075	10	3,2	0,952	0,124	10
3,2	0,696	0,074	10	10	0,877	0,127	10
10	0,384	0,037	10	32	0,561	0,111	10
32	0,112	0,028	10	100	0,165	0,048	10

n-butylacetaat				isobutylalcohol			
0	2,561	0,929	12	0	1,973	0,239	12
3,2	2,862	0,95	12	3,2	1,769	0,3	12
10	2,638	0,555	12	10	1,414	0,231	12
32	2,025	0,689	12	32	1,127	0,16	12
100	1,037	0,231	12	100	0,677	0,113	12
320	0,276	0,114	12	320	0,344	0,058	12

diethylftalaat				dibutylftalaat			
0	0,972	0,097	10	0	1,036	0,073	10
1	0,993	0,097	10	0,032	0,906	0,121	10
3,2	0,994	0,087	10	0,1	1,016	0,061	10
10	0,728	0,068	10	0,32	0,977	0,159	10
32	0,401	0,037	10	1	0,923	0,103	10
100	0,197	0,029	10	3,2	0,942	0,1	10
320	0,085	0,017	10	10	0,827	0,082	10
				32	0,642	0,155	10

* oplosmiddel blanco's

diethylhexylftalaat				furaan			
0	0,945	0,05	9	0	0,936	0,1	10
0 *	0,867	0,11	10	10	0,918	0,223	10
0,01	0,773	0,105	10	32	0,869	0,154	10
0,032	0,866	0,118	10	100	0,591	0,043	10
0,1	0,881	0,109	10	320	0,113	0,041	10
0,18	0,795	0,13	10	1000	0,049	0,024	6
0,32	0,902	0,08	9				
1	0,86	0,106	10				

heptaan				octaan			
0	1,419	0,29	10	0	0,981	0,093	10
0 *	1,353	0,091	9	0 *	0,989	0,134	10
0,032	1,397	0,141	10	0,01	0,949	0,172	10
0,1	1,386	0,141	10	0,032	0,947	0,129	10
0,32	1,244	0,134	10	0,1	0,874	0,158	10
1	0,857	0,101	10	0,32	0,877	0,116	10
2,4	0,6	0,146	10	0,56	0,944	0,171	10
3,2	0,443	0,173	10	1	0,896	0,134	10

decaan				tolueen			
0	1,158	0,243	10	0	1,679	0,123	5
0 *	1,195	0,077	10	3,2	1,671	0,147	5
0,001	1,192	0,105	10	10	1,07	0,261	5
0,0032	1,086	0,152	10	32	0,528	0,099	5
0,01	1,092	0,237	10	100	0,174	0,082	5
0,032	1,051	0,132	10	320	0,046	0,014	4

naftaleen				bifenyyl			
0	1,564	0,458	5	0	1,911	0,38	5
0 *	1,7	0,261	4	0 *	2,011	0,38	5
0,32	1,489	0,468	5	0,375	1,553	0,245	5
1	1,786	0,765	5	0,75	1,597	0,424	5
3,2	1,065	0,508	5	2,4	0,933	0,368	5
10	1,059	0,121	5	3,75	0,674	0,248	5
32	0,476	0,149	5	7,5	0,32	0,179	5

* oplosmiddel blanco's

aniline				aceetanilide			
0	1,125	0,125	10	0	0,958	0,067	10
0,1	1,097	0,096	10	0,32	0,871	0,109	10
0,32	1,09	0,156	10	1	0,884	0,085	10
1	1,137	0,099	10	3,2	0,759	0,109	10
3,2	0,884	0,052	10	10	0,399	0,02	9
10	0,466	0,066	10	32	0,122	0,04	10
32	0,084	0,022	10	100	0,043	0,015	9

pyridine				1,2-diaminobenzeen			
0	0,985	0,106	10	0	1,174	0,124	10
1	1,031	0,116	10	0,32	1,091	0,124	10
3,2	0,876	0,065	10	1	0,792	0,108	10
10	0,918	0,071	10	3,2	0,305	0,045	10
32	0,813	0,126	10	10	0,12	0,02	10
100	0,553	0,041	10	32	0,058	0,01	8
320	0,044	0,008	9	100	0,025	0,005	6

2,5-diaminotolueensulfaat				rhodamine B			
0	1,093	0,083	10	0	0,803	0,106	10
1	0,953	0,091	10	0,32	0,765	0,12	10
3,2	0,793	0,092	10	1	0,674	0,08	10
10	0,457	0,045	10	3,2	0,302	0,058	10
32	0,175	0,019	10	10	0,112	0,035	10
100	0,056	0,007	10	32	0,056	0,011	10
320	0,014	0,002	5	100	0,018	0,004	9

trypaan blauw				azinfosmethyl			
0	0,8	0,116	9	0	1,129	0,096	10
3,2	0,845	0,133	10	0,1	1,288	0,104	10
10	0,733	0,095	10	0,32	1,357	0,157	10
32	0,619	0,087	10	1	1,248	0,103	10
100	0,36	0,063	10	3,2	1,166	0,139	10
320	0,293	0,045	10	10	0,81	0,137	10
1000	0,213	0,024	10	18	0,598	0,137	10
				32	0,402	0,108	10

* oplosmiddel blanco's

endosulfan				triazofos			
0	0,976	0,15	10	0	0,881	0,163	10
verz.	0,815	0,109	10	0,32	1,022	0,121	10
				1	0,994	0,254	9
				3,2	1,019	0,092	10
				10	0,766	0,096	10
				18	0,597	0,165	10
				32	0,437	0,046	10
				53	0,223	0,031	10

BIJLAGE 5 (voorheen bijlage 1 bij M 88/19)

Invloed van lage zuurstofgehalten op de groei van de planten in waterculturen

Er werden twee typen toetsen uitgevoerd, namelijk één toetst zonder toxische (afbreekbare) stof (1) en één toets met toxische (afbreekbare) stof (2), beide toetsen met lage zuurstofgehalten.

ad 1

Een laag zuurstofgehalte (ca. $0,7 \text{ mg.l}^{-1}$) gedurende bijna de gehele proeftijd (14 d) werd bereikt door continu stikstof te leiden door de ("blanco") voedingsoplossing.

Zoals dit ook in de "normale" toxiciteitstoetsen gebeurt, werden de toetsoplossingen elke maandag, woensdag en vrijdag verversen waarbij de voedingsoplossing enige tijd ($< 1,5 \text{ h}$) een hoger zuurstofgehalte had. Na ongeveer 1,5 h doorleiden van stikstof was het zuurstofgehalte ongeveer $0,7 \text{ mg.l}^{-1}$ ("N2 planten"). Deze proef werd uitgevoerd met slapplanten in een $\pm 13 \text{ l}$ aquariumbak (zoals in gebruik bij het project Fytotoxiciteit I, zie R 86/181a).

Ter vergelijking werden planten, onder overigens dezelfde omstandigheden, gekweekt met en zonder continu lucht doorleiden ("luchtplanten" resp. "niet beluchte planten").

De "N2 planten" waren visueel iets kleiner en donkerder groen dan de "luchtplanten" en "niet beluchte planten". Hun wortels waren veel kleiner en donkerder (= bruin in plaats van wit) dan die van de "luchtplanten" en "niet beluchte planten". De "niet beluchte planten" waren visueel even groot als de "luchtplanten"; de "niet beluchte planten" waren iets donkerder groen en de wortels juist "witter" dan die van de "luchtplanten".

De gemeten grootheden zijn vermeld in onderstaande tabel.

Tabel 2 *Gegevens over de planten, gegroeid met stikstof of lucht doorleiden of in voedingsoplossing zonder doorleiden van enig gas.*

planten	N	gem. gewicht $\pm s$ (g)	% droog ¹⁾ gewicht	lengte wortels (cm)	O ₂ tijdens proef (mg.l^{-1})
"N2 planten"	24	$1,97 \pm 0,28$	5,70	7	$0,7$ ²⁾
"luchtplanten"	24	$2,66 \pm 0,46$	4,92	23-24	7,8-8,6
planten zonder lucht of N2 door- geleiden ("niet beluchte planten")	24	$2,76 \pm 0,49$	5,04	24-25	3,5-8,6

¹⁾ bepaald aan 20 planten

²⁾ behalve de eerste 1 à 2 h na verversen, dan $>> 0,7 \text{ mg.l}^{-1}$

ad 2

Een laag zuurstofgehalte in de voedingsoplossing tijdens de proef treedt "vanzelf" op bij het toetsen van goed afbreekbare stoffen, indien niet wordt belucht.

Met één stof (isobutylalcohol), waarvan een geringe toxiciteit werd verwacht, werd een standaard toxiciteitstoets uitgevoerd, waarbij één van de concentraties werd getoetst met en zonder beluchting. Als concentratie hiervan werd de tevoren geschatte concentratie met "juist een effect" genomen ($= 100 \text{ mg.l}^{-1}$). Er werden "2 blanco's" meegenomen, namelijk de blanco voedingsoplossing zonder beluchten (standaard) en een blanco voedingsoplossing met stikstof doorleiden. De proef werd uitgevoerd in de 13 l-aquaria als bij ad 1.

Na 14 d bleken in dit geval (in tegenstelling tot "ad 1") de "N2 planten" en "niet beluchte planten" geen significant verschil in gewicht te hebben. Dit gold ook voor de planten gekweekt bij 100 mg.l^{-1} isobutylalcohol, wel of niet belucht.

De EC50-waard (na 14 dagen) van isobutylalcohol waarbij de concentratie 100 mg.l^{-1} niet werd belucht (zoals alle overige concentraties) bleek 42 mg.l^{-1} en die met (alléén) 100 mg.l^{-1} belucht 47 mg.l^{-1} te bedragen.

Het O_2 -gehalte bij 100 mg.l^{-1} isobutylalcohol belucht, was tijdens de proef $8,5\text{-}5,8 \text{ mg.l}^{-1}$. Niet belucht was het zuurstofgehalte $8,5\text{-}0,4 \text{ mg.l}^{-1}$.

Uit 1 en 1 wordt geconcludeerd:

- a) De "afwijkingen" aan planten gekweekt bij overwegend lage O_2 -gehalten, verkregen door stikstof te leiden door blanco voedingsoplossing, zijn gering en niet reproduceerbaar.
- b) Een laag O_2 -gehalte gedurende bepaalde tijden in een toxiciteitstoets beïnvloedt de EC50- en NOEC-waarden nauwelijks.
- c) Het bij beluchten mogelijk "strippen" van de toetsverbinding lijkt een veel grotere invloed op de EC50-waarden te hebben (zie hiervoor BV 87/92) dan een O_2 -gehalte (op te heffen door beluchten).

Opgemerkt wordt dat de in deze Bijlage 5 vermelde resultaten afkomstig zijn van een oriënterend onderzoek.

BIJLAGE 6 DROGESTOFGEHALTEN

Verschil in drogestofgehalte (bij het eind van de toets; in percentage van het vers gewicht) tussen planten met groeiremming en controleplanten van eenzelfde toets.

stof	grond		voedingsoplossing	
	concentratie mg/kg	verschil ²⁾	concentratie mg/l	verschil ²⁾
2-chlooraniline	-	-	32	0,35
3-chlooraniline	32	1,18	32	1,10
2,4-dichlooraniline	32	0,41	1,0	0,17
3,4-dichlooraniline	-	-	1,0	0,68
3,5-dichlooraniline	-	-	3,2	0,38
2,4,6-trichlooraniline	32	1,32	3,2	0,76
2,3,4,5-tetrachlooraniline	32	0,24	0,32	1,30
2,3,5,6-tetrachlooraniline	-	-	0,32	0,37
pentachlooraniline	-	-	1,0	0,67
monochloorbenzeen	-	-	1,0	1,15
1,4-dichloorbenzeen	-	-	3,2	0,67
1,2,3-trichloorbenzeen	3,2	0,27	0,032	1,44
1,2,4-trichloorbenzeen	32	0,66	1,0	1,69
1,3,5-trichloorbenzeen	100	0,65	1,0	0,44
1,2,3,4-tetrachloorbenzeen	32	0,97	1,0	1,91
1,2,4,5-tetrachloorbenzeen	3,2	1,64	0,032	0,40
pentachloorbenzeen	100	0,79	1,0	0,46
hexachloorbenzeen	1000	0,63	[verz.]	0,34
1-chloor-2-nitrobenzeen	3,2	0,26	3,2	1,96
1-chloor-3-nitrobenzeen	-	-	3,2	0,68
m-cresol	-	-	32	0,25
2,3,5-trichloorphenol	-	-	1,0	1,49
pentachloorphenol	-	-	0,032	1,11
β-naftol	320	2,22	3,2	0,58
benzaldehyde	32,0	-0,01	3,2	0,15
diethylftalaat	-	-	32	1,36
dibutylftalaat	-	-	32	0,91
diethylhexylftalaat	-	-	1,0	0,35
furaan	1000	4,28	100	1,37
heptaan	-	-	2,4	1,95
octaan	-	-	[verz.]	0,85
decaan	-	-	[verz.]	1,27
aniline	-	-	3,2	0,61
aceetanilide	-	-	10	0,88
pyridine	-	-	32	0,31
1,2-diaminobenzeen	32	1,32	1,0	0,50
2,5-diaminotolueensulfaat	1000	1,04	10	1,60
rhodamine B	32	0,73	-	-
trypaan blauw	320	1,00	32	1,05
azinfos-methyl	1000	2,10	32	2,00
triazofos	100	1,90/1,55 ¹⁾	-	-
endosulfan	-	-	[verz.]	0,36

¹⁾ Twee proeven uitgevoerd.

²⁾ In deze kolom wordt gegeven:

Het verschil tussen het percentage droge stof van de planten bij de opgegeven concentratie (2e kolom) van de stof (1e kolom) en het percentage droge stof van de controleplanten van dezelfde toets.

Het drogestofgehalte van de controleplanten varieerde tussen: 4,9-6,1% (grond) en 4,7-6,2 (voedingsoplossing) tijdens de toetsen.

Het percentage droge stof was altijd (behalve bij benzaldehyde) hoger in de planten met groeiremming dan in de controleplanten.

Bij het toetsen (in grond of voedingsoplossing) van de volgende stoffen werd de bepaling van het drogestofgehalte van de planten niet uitgevoerd: 2,4,5-trichlooraniline, fenol, o-cresol, n-butylacetaat, toluen, naftaleen, bifenyl en isobutylacetaat.