

RIJKSINSTITUUT VOOR DE VOLKSGEZONDHEID
BILTHOVEN/UTRECHT

RIV-rapport nr. 668115 001

Vergelijkend kortdurend onderzoek met water-
organismen ter bepaling van de acute toxiciteit
van een aantal biociden

J.H.Canton en Mw.E.A.M.Mathijssen-Spiekman

maart 1983

Dit onderzoek is uitgevoerd op verzoek van de Directeur-Generaal voor Milieu-
hygiëne en is beschreven in project 668115 (opdrachtbrief DGMH/BWS/Sf/n/47137
d.d. 24 december 1981).

Verzendlijst

- | | | | |
|----|---|----|---|
| 1 | - | 15 | Directeur-Generaal voor de Milieuhygiëne van het Ministerie van Volkshuisvesting, Ruimtelijke Ordening en Milieubeheer |
| 16 | | | Secretaris-Generaal van het Ministerie van Welzijn, Volksgezondheid en Cultuur |
| 17 | | | Plv. Directeur-Generaal voor de Milieuhygiëne van het Ministerie van Volkshuisvesting, Ruimtelijke Ordening en Milieubeheer |
| 18 | | | Hoofdinspecteur van de Volksgezondheid, belast met het toezicht op de hygiëne van het milieu |
| 19 | | | Directeur Instituut voor Afvalstoffenonderzoek |
| 20 | | | Directeur Rijksinstituut voor Drinkwatervoorziening |
| 21 | | | Directie Rijks Instituut voor de Volksgezondheid |
| 22 | | | Dr.C.L.C.Meyer, Hoofdafdeling Water |
| 23 | | | Drs.C.Kuiper, Hoofdafdeling Stoffen |
| 24 | | | Dr.J.J.Ende, Hoofdafdeling Stoffen |
| 25 | | | Drs.G.J.van Esch |
| 26 | | | Drs.A.Minderhoud |
| 27 | - | 28 | Auteurs |
| 29 | - | 30 | Projecten- en rapportenadministratie |
| 31 | - | 35 | Reserve-exemplaren |

INHOUD

	<u>Blz.</u>
Samenvatting	1
Inleiding	2
Materiaal en methode	3
Resultaten	4
Discussie	5
Tabellen 1 t/m 12	
Bijlagen 1 en 2	

Vergelijkend kortdurend onderzoek met waterorganismen ter bepaling van de acute toxiciteit van een aantal biociden

J.H.Canton en mw.E.A.M.Mathijssen-Spiekman

Samenvatting

Om de effecten van een aantal biociden onderling met elkaar te kunnen vergelijken en om na te gaan in hoeverre de toegepaste gebruiksdoseringen juist zijn werd kortdurend toxiciteitsonderzoek uitgevoerd met twee ééncellige groenalgen (Chlorella pyrenoidosa en Scenedesmus pannonicus), een kreeftachtige (Daphnia magna) en twee vissen (Poecilia reticulata en Oryzias latipes).

Kreeftachtigen en algen bleken voor alle onderzochte biociden gevoeliger te zijn dan vissen (factor 10-20x) met uitzondering van het daphnia-onderzoek met Turbanion M 101 (factor 100-300x gevoeliger).

De NOEC-waarden variëren van 0,0056 - 1,0 mg/l voor algen en kreeftachtigen en van 0,18 - 10 mg/l voor vissen.

De toegepaste gebruiksdoseringen zijn minstens een factor 10 hoger dan de concentraties waarbij 100% effect werd waargenomen bij algen en kreeftachtigen met uitzondering van Barquat MB 50. De gebruiksdosering van deze formulering blijkt wel in overeenstemming te zijn met de toxiciteit.

Bardac LF is minder toxisch voor vissen vergeleken met de andere verbindingen en de effecten van Turbanion M 101 op Daphnia magna blijken in de tijd nog toe te nemen.

Inleiding

In de subgroep Industriële Biociden van de Commissie voor Toelating Bestrijdingsmiddelen kwam naar voren dat de gebruiksdoseringen van een aantal in koelwatersystemen toegepaste biociden, welke dezelfde actieve component bevatten, niet met elkaar in overeenstemming waren. Aangezien er niet voldoende betrouwbare toxiciteitsgegevens met waterorganismen voorhanden zijn en de beschikbare gegevens afkomstig waren van verschillende typen toetsen werden gestandaardiseerde kortdurende toxiciteits-toetsen uitgevoerd met organismen van verschillende trofische niveaus, namelijk twee ééncellige groenalgen, een kreeftachtige en twee vissen. Aan de hand van deze gegevens kan nagegaan worden in hoeverre de gebruiksdoseringen juist zijn en kunnen de effecten van deze verbindingen onderling beter met elkaar vergeleken worden.

Materiaal en methode

In bijlage 1 is een overzicht gegeven van de herkomst en de samenstelling van de onderzochte biociden. Tevens werd onderzoek verricht naar de toxiciteit van didecyldimethylammoniumchloride, welke verbinding door de Keuringsdienst van Waren te Groningen geïsoleerd werd uit Bardac 22.

In tabel 1 is een overzicht gegeven van de testorganismen, de experimentele condities en de criteria tijdens het toxiciteitsonderzoek.

Om na te gaan of de testverbindingen de pH of het zuurstofgehalte van het testmedium beïnvloeden, werden bij de toxiciteitstoetsen metingen verricht op $t = 0$ en $t = 48$ uur (bij het onderzoek met kreeftachtigen en vissen) en op $t = 0$ en $t = 96$ uur (bij het onderzoek met algen). De pH werd gemeten met een pH-meter (Philips pw 9409) en het zuurstofgehalte met een zuurstofmeter (Beckman model 0260). Alle toetsen werden uitgevoerd conform de (concept)normen van het Nederlands Normalisatie Instituut (NEN 6501, 6504 en 6506).

Aangezien uit onderzoek aan verwante verbindingen (De Kreuk, 1981) gebleken is dat de mogelijkheid bestaat dat de testverbindingen aan de glaswand adsorberen, werden de toetsvaten 24 uur voor het inzetten van de toets in evenwicht gebracht met de testoplossingen. Op $t = 0$ uur werden deze oplossingen verwijderd en de testoplossingen werden met behulp van hetzelfde glaswerk in de betreffende toetsvaten gebracht. Bij het overzetten in vers bereide oplossingen na 48 uur werd dezelfde procedure gevolgd. De vissen werden tijdelijk in andere toetsvaten overgezet die de "oude" testoplossingen bevatten. Daarna werden ze, nadat in de "oude" toetsvaten nieuwe oplossingen waren gebracht, in deze testvaten teruggezet.

Tijdens het toxiciteitsonderzoek werden geen specifieke analyses verricht omdat verwacht werd dat de ontwikkeling van de bepalingsmethoden nogal wat problemen zou opleveren; ten gevolge daarvan en vanwege de beschikbare capaciteit op de analytische afdeling werd afgesproken het onderzoek zonder analyses uit te voeren.

Resultaten

De resultaten van het kortdurend toxiciteitsonderzoek zijn samengevat in de tabellen 2 t/m 11.

Voor algen en kreeftachtigen variëren de NOEC-waarden van 0,0056 - 1,0 mg/l en voor vissen van 0,18 - 10 mg/l. Aangezien er geen analyses uitgevoerd zijn, zijn deze resultaten niet gecorrigeerd voor de werkelijk aanwezige hoeveelheid testverbinding tijdens het onderzoek.

Abnormaal gedrag dat werd waargenomen bij het onderzoek met kreeftachtigen en vissen betrof een trager voortbewegen van de organismen ten opzichte van de controledieren.

Tijdens de experimenten werd geen invloed van de getoetste verbindingen waargenomen op de pH en het zuurstofgehalte van het testmedium.

Discussie

Kreeftachtigen en algen bleken voor alle onderzochte biociden gevoeliger te zijn dan vissen. Dit verschil in gevoeligheid was meestal een factor 10-20 met uitzondering van het daphnia-onderzoek met Turbanion M 101; voor deze testverbinding (zie tabel 7) was dit organisme zelfs ca. 100-300x gevoeliger dan de vissen.

Indien de LC en EC-waarden met elkaar vergeleken worden kan geconstateerd worden dat het criterium afwijkend gedrag niet veel gevoeliger is dan mortaliteit.

Tussen de algen Chlorella en Scenedesmus alsook tussen de twee geteste vissoorten werden geen verschillen in gevoeligheid waargenomen.

Met de verbindingen die Dodigen 226, Bardac 22, Bardac LF, Barquat MB 50 en Barquat 4250 bevatten namen de NOLC/NOEC-waarden in de tijd niet of nauwelijks af. Opvallend hierbij is dat alleen de resultaten van de eerste score bij het onderzoek met Daphnia magna (binnen 6 uur na het inzetten) steeds hogere toxiciteitswaarden opleverden. Een verklaring hiervoor zou kunnen zijn dat deze score relatief snel na het inzetten van de toets plaatsvindt.

Voor de testverbindingen Turbanion M 101 en didecyldimethylammoniumchloride daarentegen namen de effecten in de tijd wel toe bij Daphnia magna maar niet of nauwelijks bij de andere organismen. Om een betere indruk te krijgen over de incipiënt $L(E)C_{50}$ zouden deze twee verbindingen bij voorkeur eerst in een langdurend toxiciteitsonderzoek met Daphnia magna getoetst moeten worden.

De biociden Rutosol D80, Algicide 904 en Hatacide 8 bevatten resp. 10%, 40% en 95% Dodigen 226. De waargenomen effecten van deze verbindingen (zie $L(E)C_{50}$ -waarden in tabel 5, 3, 4 en 2) zijn in overeenstemming met de effecten welke verwacht werden op grond van hun samenstelling namelijk resp. 10/100, 40/100 en 95/100 ongevoeliger dan die welke met Dodigen 226 werden waargenomen. Dit betekent dat Arkopal (4% in Rutosol D80), Entschäumer KN (5% in Hatacide 8) en indigocarmine (10 mg/l in Hatacide 8) geen invloed hadden op de toxiciteit van Dodigen 226.

Wanneer de resultaten van Bardac 22 (tabel 9) vergeleken worden met die van didecyldimethylammoniumchloride (tabel 11) kan gesteld worden dat ook hier de effecten welke waargenomen werden met Bardac 22 in overeenstemming waren met die welke verwacht werden op grond van de samenstelling.

Opmerkelijk is echter het feit dat de effecten van didecyldimethylammoniumchloride in de tijd sterker toenemen dan die van Bardac 22. Indien de laagste NOEC-waarden (op basis van actieve ingrediënt) van de geteste verbindingen met elkaar vergeleken worden, kunnen de biociden in afnemende mate van toxiciteit als volgt gerangschikt worden:

- Turbanion M 101 (NOEC 0,0028 mg/l)
- Dodigen 226, Barquat 4250 (NOEC 0,0048 - 0,0050 mg/l)
- Barquat MB 50, Bardac LF, Algicide 904 (NOEC 0,009 - 0,010 - 0,011 mg/l)
- Bardac 22, Hatacide 8, Rutosol D 80 (NOEC 0,014 - 0,014 - 0,015 mg/l)

Er zijn slechts twee artikelen gepubliceerd over de toxiciteit van biociden voor waterorganismen welke redelijkerwijze ter vergelijking gebruikt kunnen worden. Het betreft onderzoek van Gessler et al (1976) waarin de effecten van Bardac LF, Bardac 22 en Barquat MB50 op de groenalgen Chlorella en Scenedesmus bestudeerd worden en een tweetal LC₅₀-waarden van Barquat MB50 voor de vissoorten Lepomis en Carassius (Krzeminski et al., 1973). De resultaten blijken overeen te komen met die uit onderhavig onderzoek.

De relatie tussen de resultaten van het toxiciteitsonderzoek en de toegepaste gebruiksdosering is weergegeven in tabel 12. Om er zeker van te zijn dat de biociden optimaal werken zouden de concentraties in de koelwatersystemen overeen moeten komen met die waarbij 50-100% effect werd waargenomen in het toxiciteitsonderzoek met algen en kreeftachtigen. Dit blijkt alleen het geval te zijn voor Barquat MB50. Voor de overige verbindingen is de gebruiksdosering minstens een factor 10 hoger dan de concentratie waarbij 100% effect werd waargenomen. Bovendien dient echter opgemerkt te worden dat Bardac LF minder toxisch is voor vissen vergeleken met de andere verbindingen en dat de effecten van Turbanion M 101 op Daphnia magna in de tijd toenemen.

Literatuur

1. Gessler, C., G.Defago and H.Kern (1976)
Über die algistatische und algicide Wirkung von ausgewählten quaternären Ammoniumverbindungen bei bestimmten Algen.
Gas-Wasser-Abwasser, Sonderdruck nr. 741, p. 2
2. Kreuk, J.F.de en A,O.Hanstveit (1981)
Onderzoek naar de afbraak van een tweetal bestrijdingsmiddelen in water.
TNO-rapport nr. C1 81-157
3. Krzeminski, S.F., J.J.Martin and C.K.Bracket (1973)
Environmental impact of a quaternary ammonium bactericide.
Household & personal products industry, 19, March, p. 22
4. NEN 6501, Nederlandse Norm (1980)
Wateronderzoek. Bepaling van de acute toxiciteit met Daphnia magna
Nederlands Normalisatie Instituut, Delft
5. NEN 6504, Nederlandse Norm (1980)
Wateronderzoek. Bepaling van de acute toxiciteit met Poecilia reticulata
Nederlands Normalisatie Instituut, Delft
6. NEN 6506, Neederlandse Norm (1982)
Wateronderzoek. Bepaling van de toxiciteit met eencellige algen
Nederlands Normalisatie Instituut, Delft

Tabel 1: Testorganismen, experimentele condities en toxicologische criteria
bij het kortdurend toxiciteitsonderzoek met een aantal biociden

Testorganisme	Leeftijd	Blootstel- lingstijd in uur	Aantal organismen per groep	Testvolume per groep in liter	Temperatuur in °C	Belichting	Doserings- wijze	Verversings- graad	Criteria
<i>Chlorella pyrenoidosa</i>	log-fase	96	10 ⁴ cellen per ml	0,150 ¹⁾	24 ± 1	continu (>5000lux)	statisch	-	groei
<i>Scenedesmus pannonicus</i>	log-fase	96	10 ⁴ cellen per ml	0,150 ¹⁾	24 ± 1	continu (>5000lux)	statisch	-	groei
<i>Daphnia magna</i>	< 1 dag	48	25	1 ²⁾	19 ± 1	circadisch 12 uur licht 12 uur don- ker	statisch	-	mortaliteit verlamming afwijkend gedrag
<i>Poecilia reticulata</i>	3 à 4 weken	96	10	1 ²⁾	23 ± 2	circadisch 14 uur licht 10 uur don- ker	pulserend	1 x per 48 uur	mortaliteit verlamming afwijkend gedrag
<i>Oryzias latipes</i>	4 à 5 weken	96	10	1 ²⁾	23 ± 2	circadisch 14 uur licht 10 uur don- ker	pulserend	1 x per 48 uur	mortaliteit verlamming afwijkend gedrag

1) Gebruikte medium M1-medium, hardheid 3,02°DH

2) Gebruikte medium DSW , hardheid 11,7°DH

zie bijlage 2

Tabel 2: Samenvatting van de resultaten van het kortdurend toxiciteitsonderzoek
(in mg/l) met Dodigen 226

Testorganisme	NOLC/NOEC LC ₅₀ /EC ₅₀	≤ 6 uur	24 uur	48 uur	72 uur	96 uur
Chlorella	EC ₅₀ ¹⁾	-	0,26	0,28	0,26	0,28
pyrenoïdosa	NOEC ¹⁾	-	0,032	0,10	0,10	0,10
Scenedesmus	EC ₅₀ ¹⁾	-	0,75	0,28	0,26	0,27
pannonicus	NOEC ¹⁾	-	0,032	0,10	0,10	0,10
Daphnia magna	LC ₅₀ ²⁾	> 10	0,16	0,11	-	-
	EC ₅₀ ³⁾	> 10	0,018	0,018	-	-
	NOLC ²⁾	≥ 10	0,032	0,010	-	-
	NOEC ³⁾	≥ 10	0,010	0,010	-	-
Poecilia	LC ₅₀ ²⁾	-	2,4	2,4	2,4	2,4
reticulata	EC ₅₀ ³⁾	-	1,3	1,3	0,75	0,75
	NOLC ²⁾	-	1,8	1,8	1,8	1,8
	NOEC ³⁾	-	1,0	1,0	0,56	0,56
Oryzias	LC ₅₀ ²⁾	-	4,2	4,2	4,0	3,8
latipes	EC ₅₀ ³⁾	-	0,75	0,75	0,75	0,75
	NOLC ²⁾	-	3,2	3,2	1,8	1,8
	NOEC ³⁾	-	0,56	0,56	0,56	0,56

1) Het gescoorde effect behelst groeiremming

2) Het gescoorde effect behelst mortaliteit

3) Het gescoorde effect behelst mortaliteit en afwijkend gedrag

Tabel 3: Samenvatting van de resultaten van het kortdurend toxiciteitsonderzoek
(in mg/l) met Algicide 904

Testorganisme	NOLC/NOEC LC ₅₀ /EC ₅₀	≤ 6 uur	24 uur	48 uur	72 uur	96 uur
Chlorella	¹⁾ EC ₅₀	-	0,45	0,51	0,54	0,54
pyrenoidosa	¹⁾ NOEC	-	0,10	0,10	0,10	0,10
Scenedesmus	¹⁾ EC ₅₀	-	0,85	0,32	0,33	0,32
pannonicus	¹⁾ NOEC	-	0,32	0,10	0,10	0,10
Daphnia magna	²⁾ LC ₅₀	> 1,0	0,26	0,16	-	-
	³⁾ EC ₅₀	> 1,0	0,23	0,12	-	-
	²⁾ NOLC	≥ 1,0	0,10	0,056	-	-
	³⁾ NOEC	≥ 1,0	0,10	0,056	-	-
Poecilia	²⁾ LC ₅₀	-	5,4	4,5	3,8	3,4
reticulata	³⁾ EC ₅₀	-	2,4	2,4	1,3	1,3
	²⁾ NOLC	-	3,2	3,2	1,8	1,8
	³⁾ NOEC	-	1,8	1,8	1,0	1,0
Oryzias	²⁾ LC ₅₀	-	7,0	6,9	6,3	6,1
latipes	³⁾ EC ₅₀	-	0,75	0,75	0,75	0,75
	²⁾ NOLC	-	3,2	3,2	3,2	3,2
	³⁾ NOEC	-	0,56	0,56	0,56	0,56

1) Het gescoorde effect behelst groeiremming

2) Het gescoorde effect behelst mortaliteit

3) Het gescoorde effect behelst mortaliteit en afwijkend gedrag

Tabel 4: Samenvatting van de resultaten van het kortdurend toxiciteitsonderzoek
(in mg/l) met Hatacide 8

Testorganisme	NOLC/NOEC LC ₅₀ /EC ₅₀	≤ 6 uur	24 uur	48 uur	72 uur	96 uur
Chlorella	EC ₅₀ ¹⁾	-	0,30	0,32	0,48	0,40
pyrenoidosa	NOEC ¹⁾	-	0,10	0,10	0,10	0,10
Scenedesmus	EC ₅₀ ¹⁾	-	0,49	0,29	0,25	0,27
pannonicus	NOEC ¹⁾	-	0,10	0,10	0,10	0,10
Daphnia magna	LC ₅₀ ²⁾	5,7	0,20	0,16	-	-
	EC ₅₀ ³⁾	1,8	0,18	0,056	-	-
	NOLC ²⁾	3,2	0,10	0,032	-	-
	NOEC ³⁾	1,0	0,10	0,032	-	-
Poecilia	LC ₅₀ ²⁾	-	3,0	2,5	2,4	2,3
reticulata	EC ₅₀ ³⁾	-	2,4	2,4	1,3	1,3
	NOLC ²⁾	-	1,8	1,8	1,8	1,0
	NOEC ³⁾	-	1,8	1,8	1,0	1,0
Oryzias	LC ₅₀ ²⁾	-	3,0	2,9	2,7	2,7
latipes	EC ₅₀ ³⁾	-	0,75	0,75	0,75	0,75
	NOLC ²⁾	-	1,8	1,8	1,8	1,8
	NOEC ³⁾	-	0,56	0,56	0,56	0,56

1) Het gescoorde effect behelst groeiremming

2) Het gescoorde effect behelst mortaliteit

3) Het gescoorde effect behelst mortaliteit en afwijkend gedrag

Tabel 5: Samenvatting van de resultaten van het kortdurend toxiciteitsonderzoek
(in mg/l) met Rutosol D80

Testorganisme	NOLC/NOEC LC ₅₀ /EC ₅₀	≤ 6 uur	24 uur	48 uur	72 uur	96 uur
Chlorella	EC ₅₀ ¹⁾	-	3,8	3,7	3,6	3,7
pyrenoidosa	NOEC ¹⁾	-	1,0	1,0	1,0	1,0
Scenedesmus	EC ₅₀ ¹⁾	-	2,3	1,7	1,7	2,1
pannonicus	NOEC ¹⁾	-	1,0	0,32	0,32	0,32
Daphnia magna	LC ₅₀ ²⁾	> 10	1,8	1,6	-	-
	EC ₅₀ ³⁾	0,56	0,56	0,56	-	-
	NOLC ²⁾	≥ 10	1,0	0,32	-	-
	NOEC ³⁾	0,32	0,32	0,32	-	-
Poecilia	LC ₅₀ ²⁾	-	24	24	23	22
reticulata	EC ₅₀ ³⁾	-	24	24	13	13
	NOLC ²⁾	-	18	18	10	10
	NOEC ³⁾	-	18	18	10	10
Oryzias	LC ₅₀ ²⁾	-	24	24	24	22
latipes	EC ₅₀ ³⁾	-	7,5	7,5	7,5	7,5
	NOLC ²⁾	-	18	18	18	10
	NOEC ³⁾	-	5,6	5,6	5,6	5,6

1) Het gescoorde effect behelst groeiremming

2) Het gescoorde effect behelst mortaliteit

3) Het gescoorde effect behelst mortaliteit en afwijkend gedrag

Tabel 6: Samenvatting van de resultaten van het kortdurend toxiciteitsonderzoek
(in mg/l) met Barquat MB 50

Testorganisme	NOLC/NOEC	≤ 6 uur	24 uur	48 uur	72 uur	96 uur
	LC ₅₀ /EC ₅₀					
Chlorella	EC ₅₀ ¹⁾	-	0,16	0,090	0,090	0,10
pyrenoidosa	NOEC ¹⁾	-	0,056	0,018	0,018	0,018
Scenedesmus	EC ₅₀ ¹⁾	-	0,075	0,075	0,080	0,085
pannonicus	NOEC ¹⁾	-	0,018	0,018	0,032	0,032
Daphnia magna	LC ₅₀ ²⁾	> 1,0	0,21	0,095	-	-
	EC ₅₀ ³⁾	> 1,0	0,18	0,056	-	-
	NOLC ²⁾	≥ 1,0	0,10	0,032	-	-
	NOEC ³⁾	≥ 1,0	0,10	0,032	-	-
Poecilia	LC ₅₀ ²⁾	-	1,8	1,6	1,4	1,3
reticulata	EC ₅₀ ³⁾	-	0,75	0,75	0,75	0,75
	NOLC ²⁾	-	0,56	0,56	0,56	0,56
	NOEC ³⁾	-	0,56	0,56	0,56	0,56
Oryzias	LC ₅₀ ²⁾	-	2,9	2,9	2,5	2,4
latipes	EC ₅₀ ³⁾	-	0,75	0,75	0,75	0,75
	NOLC ²⁾	-	1,8	1,8	1,8	1,8
	NOEC ³⁾	-	0,56	0,56	0,56	0,56

1) Het gescoorde effect behelst groeiremming

2) Het gescoorde effect behelst mortaliteit

3) Het gescoorde effect behelst mortaliteit en afwijkend gedrag

Tabel 7: Samenvatting van de resultaten van het kortdurend toxiciteitsonderzoek
(in mg/l) met Turbanion M101

Testorganisme	NOLC/NOEC LC ₅₀ /EC ₅₀	≤ 6 uur	24 uur	48 uur	72 uur	96 uur
Chlorella	EC ₅₀ ¹⁾	-	0,18	0,19	0,20	0,17
pyrenoidosa	NOEC ¹⁾	-	0,056	0,056	0,056	0,056
Scenedesmus	EC ₅₀ ¹⁾	-	0,20	0,15	0,12	0,14
panonicus	NOEC ¹⁾	-	0,056	0,032	0,032	0,032
Daphnia magna	LC ₅₀ ²⁾	1,8	0,12	0,039	-	-
	EC ₅₀ ³⁾	1,8	0,056	0,039	-	-
	NOLC ²⁾	1,0	0,032	0,0056	-	-
	NOEC ³⁾	1,0	0,032	0,0056	-	-
Poecilia	LC ₅₀ ²⁾	-	4,5	4,2	4,2	4,2
reticulata	EC ₅₀ ³⁾	-	4,2	4,2	2,4	2,4
	NOLC ²⁾	-	3,2	3,2	3,2	3,2
	NOEC ³⁾	-	3,2	3,2	1,8	1,8
Oryzias	LC ₅₀ ²⁾	-	4,0	3,9	3,9	3,9
latipes	EC ₅₀ ³⁾	-	0,75	0,75	0,75	0,75
	NOLC ²⁾	-	1,8	1,8	1,8	1,8
	NOEC ³⁾	-	0,56	0,56	0,56	0,56

1) Het gescoorde effect behelst groeiremming

2) Het gescoorde effect behelst mortaliteit

3) Het gescoorde effect behelst mortaliteit en afwijkend gedrag

Tabel 8: Samenvatting van de resultaten van het kortdurend toxiciteitsonderzoek
(in mg/l) met Barquat 4250

Testorganisme	NOLC/NOEC LC ₅₀ /EC ₅₀	≤ 6 uur	24 uur	48 uur	72 uur	96 uur
Chlorella	¹⁾ EC ₅₀	-	0,11	0,13	0,15	0,17
pyrenoidosa	NOEC ¹⁾	-	0,032	0,056	0,056	0,056
Scenedesmus	¹⁾ EC ₅₀	-	> 0,32	0,31	0,29	0,27
pannonicus	NOEC ¹⁾	-	0,18	0,18	0,18	0,18
Daphnia magna	²⁾ LC ₅₀	0,85	0,12	0,056	-	-
	³⁾ EC ₅₀	0,56	0,018	0,018	-	-
	NOLC ²⁾	0,32	0,032	0,032	-	-
	NOEC ³⁾	0,32	0,010	0,010	-	-
Poecilia	²⁾ LC ₅₀	-	1,4	1,3	1,3	1,3
reticulata	³⁾ EC ₅₀	-	1,3	1,3	0,75	0,75
	NOLC ²⁾	-	1,0	1,0	0,56	0,56
	NOEC ³⁾	-	1,0	1,0	0,56	0,56
Oryzias	²⁾ LC ₅₀	-	2,1	2,1	2,1	2,0
latipes	³⁾ EC ₅₀	-	0,75	0,75	0,75	0,75
	NOLC ²⁾	-	1,0	1,0	1,0	1,0
	NOEC ³⁾	-	0,56	0,56	0,56	0,56

1) Het gescoorde effect behelst groeiremming

2) Het gescoorde effect behelst mortaliteit

3) Het gescoorde effect behelst mortaliteit en afwijkend gedrag

Tabel 9: Samenvatting van de resultaten van het kortdurend toxiciteitsonderzoek
(in mg/l) met Bardac 22

Testorganisme	NOLC/NOEC LC ₅₀ /EC ₅₀	≤ 6 uur	24 uur	48 uur	72 uur	96 uur
Chlorella	EC ₅₀ ¹⁾	-	0,28	0,21	0,24	0,19
pyrenoidosa	NOEC ¹⁾	-	0,10	0,10	0,10	0,10
Scenedesmus	EC ₅₀ ¹⁾	-	0,26	0,21	0,21	0,18
pannonicus	NOEC ¹⁾	-	0,10	0,10	0,10	0,10
Daphnia magna	LC ₅₀ ²⁾	> 1,0	0,20	0,16	-	-
	EC ₅₀ ³⁾	> 1,0	0,18	0,16	-	-
	NOLC ²⁾	≥ 1,0	0,10	0,032	-	-
	NOEC ³⁾	≥ 1,0	0,10	0,032	-	-
Poecilia	LC ₅₀ ²⁾	-	2,7	2,7	2,3	2,2
reticulata	EC ₅₀ ³⁾	-	2,4	2,4	1,3	1,3
	NOLC ²⁾	-	1,8	1,8	1,0	1,0
	NOEC ³⁾	-	1,8	1,8	1,0	1,0
Oryzias	LC ₅₀ ²⁾	-	3,0	2,9	2,4	2,4
latipes	EC ₅₀ ³⁾	-	1,3	1,3	1,3	1,3
	NOLC ²⁾	-	1,8	1,8	1,8	1,8
	NOEC ³⁾	-	1,0	1,0	1,0	1,0

1) Het gescoorde effect behelst groeiremming

2) Het gescoorde effect behelst mortaliteit

3) Het gescoorde effect behelst mortaliteit en afwijkend gedrag

Tabel 10: Samenvatting van de resultaten van het kortdurend toxiciteitsonderzoek
(in mg/l) met Bardac LF

Testorganisme	NOLC/NOEC LC ₅₀ /EC ₅₀	≤ 6 uur	24 uur	48 uur	72 uur	96 uur
Chlorella	¹⁾ EC ₅₀	-	1,9	2,0	2,7	2,9
pyrenoïdosa	NOEC ¹⁾	-	1,0	1,0	1,0	1,0
Scenedesmus	¹⁾ EC ₅₀	-	2,0	1,0	0,85	1,0
pannonicus	NOEC ¹⁾	-	0,32	0,32	0,32	0,32
Daphnia magna	²⁾ LC ₅₀	> 10	1,6	0,49	-	-
	³⁾ EC ₅₀	> 10	0,50	0,18	-	-
	NOLC ²⁾	≥ 10	0,32	0,10	-	-
	NOEC ³⁾	≥ 10	0,10	0,10	-	-
Poecilia	²⁾ LC ₅₀	-	45	40	40	38
reticulata	³⁾ EC ₅₀	-	24	24	24	13
	NOLC ²⁾	-	32	18	18	18
	NOEC ³⁾	-	18	18	18	10
Oryzias	²⁾ LC ₅₀	-	75	70	61	54
latipes	³⁾ EC ₅₀	-	13	13	13	13
	NOLC ²⁾	-	56	32	32	32
	NOEC ³⁾	-	10	10	10	10

- 1) Het gescoorde effect behelst groeiremming
2) Het gescoorde effect behelst mortaliteit
3) Het gescoorde effect behelst mortaliteit en afwijkend gedrag

Tabel 11: Samenvatting van de resultaten van het kortdurend toxiciteitsonderzoek
(in mg/l) met didecyldimethylammoniumchloride

Testorganisme	NOLC/NOEC LC ₅₀ /EC ₅₀	< 6 uur	24 uur	48 uur	72 uur	96 uur
Chlorella	EC ₅₀ ¹⁾	-	0,059	0,064	0,11	0,11
pyrenoidosa	NOEC ¹⁾	-	0,032	0,032	0,032	0,032
Scenedesmus	EC ₅₀ ¹⁾	-	0,23	0,23	0,12	0,13
pannonicus	NOEC ¹⁾	-	0,10	0,10	0,032	0,032
Daphnia magna	LC ₅₀ ²⁾	> 1,0	0,18	0,064	-	-
	EC ₅₀ ³⁾	0,56	0,18	0,059	-	-
	NOLC ²⁾	≥ 1,0	0,10	0,010	-	-
	NOEC ³⁾	0,32	0,10	0,010	-	-
Poecilia	LC ₅₀ ²⁾	-	0,75	0,75	0,71	0,64
reticulata	EC ₅₀ ³⁾	-	0,42	0,42	0,42	0,24
	NOLC ²⁾	-	0,56	0,56	0,32	0,32
	NOEC ³⁾	-	0,32	0,32	0,32	0,18
Oryzias	LC ₅₀ ²⁾	-	1,6	1,6	0,95	0,72
latipes	EC ₅₀ ³⁾	-	0,56	0,56	0,56	0,56
	NOLC ²⁾	-	0,32	0,32	0,32	0,32
	NOEC ³⁾	-	0,32	0,32	0,32	0,32

1) Het gescoorde effect behelst groeiremming

2) Het gescoorde effect behelst mortaliteit

3) Het gescoorde effect behelst mortaliteit en afwijkend gedrag

Tabel 12: Toxiciteitsgegevens en gebruiksdoseringen van een aantal biociden in mg/l op basis van actieve ingrediënt

Toxiciteitsgegevens			Gebruiksdosering	
Formulering	Organisme	ca. 50-100% effect [*]	statisch	continu
Dodigen 226	alg	0,1 - 0,5		
	kreeftachtige	0,05 - 0,2	9,5 - 19	2,4 - 4,8
	vis	1,0 - 2,7		
Algicide 904	alg	0,06 - 0,6		
	kreeftachtige	0,03 - 0,06	9,5 - 19	2,4 - 4,8
	vis	0,7 - 1,9		
Hatacide 8	alg	0,1 - 0,5		
	kreeftachtige	0,07 - 0,1	9 - 18	2,3 - 4,5
	vis	1,0 - 2,5		
Rutosol D80	alg	0,08 - 0,5		
	kreeftachtige	0,08 - 0,2	14 - 29	3,6 - 7,1
	vis	1,0 - 1,5		
Barquat MB50	alg	0,04 - 0,2		
	kreeftachtige	0,05 - 0,2	2,5 - 5	0,25 - 0,5
	vis	0,7 - 1,6		
Turbanion M101	alg	0,09 - 0,16		
	kreeftachtige	0,02 - 0,05	20	-**
	vis	2,0 - 2,8		
Barquat 4250	alg	0,06 - 0,3		
	kreeftachtige	0,03 - 0,05	20 - 39	2,2 - 9,8
	vis	0,7 - 1,6		
Bardac 22	alg	0,08 - 0,1		
	kreeftachtige	0,07 - 0,1	18 - 36	9
	vis	1,0 - 1,4		
Bardac LF	alg	0,1 - 0,6		
	kreeftachtige	0,05 - 0,10	30 - 60	10
	vis	3,8 - 10		

*effect = groeiremming (bij algen); mortaliteit (bij kreeftachtigen en vissen)

** - = er is geen gebruiksaanwijzing voor continu-dosering aanwezig

Bijlage I: Herkomst en samenstelling van de onderzochte biociden (opgesteld door mw.K.Otermann)

Handelsmiddel volgens aanvraagformulier	Firma	Toelatingsnummer	Samenstelling formulering; actieve ingrediënt	Samenstelling handelsmiddel
Dodigen 226	Hoechst	6595 N	alkyldimethylbenzylammoniumchloride water tertiaire amines + anorganische zouten 3,5%	100% Dodigen 226
Algicide 904	AVT Vloeistof-techniek	7254 N		47,5% (2% C ₁₀ , 50% C ₁₂ , 24% C ₁₄ , 11% C ₁₆ , 13% C ₁₈) 49%
Hatacide 8	Houseman	7647 N		40% Dodigen 226 60% water
Rutosol D80	Boco	7911 N		95% Dodigen 226 5% Entschäumer KN 10 mg/l Indigocarmine
Barquat MB50	Verdugt	7256 N	alkyldimethylbenzylammoniumchloride water	10% Dodigen 226 4% Arkopal 86% water
Turbanion M 101	Barentz (Guilini)	8104 N	alkyldimethylbenzylammoniumchloride	100% Barquat MB50
Barquat 4250	Verdugt	6995 N	alkyldimethylbenzylammoniumchloride alkyldimethylethylbenzylammoniumchlor. water	50% Turbanion M 101 50% water
Bardac 22	Verdugt	7086 N	dialkyldimethylammoniumchloride	100% Barquat 4250
Bardac LF	Kern	7436 N	dialkyldimethylammoniumchloride	45% Bardac 22 20% Isopropanol 35% water 10% Bardac LF 90% water

Bijlage 2: Bestanddelen en eigenschappen van de
gebruikte standaardmedia

Ionen	Ml - medium		DSW	
	mg/l	mmol/l	mg/l	mmol/l
Ca ²⁺	9,62	0,24	54,5	1,36
Mg ²⁺	7,29	0,30	17,8	0,73
Na ⁺	222,2	9,66	27,4	1,19
K ⁺	17,9	0,46	7,8	0,20
Fe ³⁺	1,01	0,02	-	-
Mn ²⁺	0,49	9,1.10 ⁻³	-	-
Cu ²⁺	0,02	3,2.10 ⁻⁴	-	-
Zn ²⁺	0,05	8,1.10 ⁻⁴	-	-
NH ₄ ⁺	74,3	4,12	-	-
Cl ⁻	17,8	0,50	96,3	2,72
CO ₃ ²⁻	113,4	1,89	-	-
HCO ₃ ⁻	-	-	84,8	1,39
SO ₄ ²⁻	28,8	0,30	70,2	0,73
HPO ₄ ²⁻	22,1	0,23	-	-
NO ₃ ⁻	620	10,0	-	-
C ₆ H ₅ O ₇ ³⁻	3,4	0,02	-	-
Hardheid	3,02 ^o DH		11,7 ^o DH	
pH	7,7 ± 0,5		8,2 ± 0,2	