



Vlaanderen
is materiaalbewust



ECOTOXICITEIT VAN AFVALSTOFFEN (HP14)

(CHEMISCHE SAMENSTELLING EN ECOTOXICITEITSTESTEN: 2015-2016)
publicatiedatum / 19.03.2018

SAMEN MAKEN WE
MORGEN MOOIER

OVAM

WWW.OVAM.BE

DOCUMENTBESCHRIJVING

- | | |
|--|--|
| 1 <i>Titel van publicatie:</i>
HP14: GEPAARDE GEGEVENS VOOR
AFVALSTOFFEN | 2 <i>Verantwoordelijke Uitgever:</i>
OVAM |
| 3 <i>Wettelijk Depot nummer::</i> 2018 | 4 <i>Trefwoorden:</i>
classificatie van afvalstoffen, HP14, ecotoxiciteit |
| 5 <i>Samenvatting:</i>
Deze publicatie beschrijft een onderzoek waarin gepaarde gegevens werden gegenereerd voor (a) biologische effecten die door afvalstoffen veroorzaakt worden bij water- en bodemorganismen, en (b) de totale concentraties van milieuschadelijke stoffen in deze afvalstoffen. Daarnaast werden ook geconcentreerde extracten onderzocht op de aanwezigheid van schadelijke stoffen (o.a. screening van stoffen met genotoxische en/of hormoonverstorende eigenschappen). Het doel is wetenschappelijke onderbouwing te leveren voor een kader voor het beoordelen van de gevaarsclassificatie HP14 (ecotoxiciteit) op basis van biotesten. Er is een consensus over de samenstelling van de testbatterij, maar duidelijke grenswaarden ontbreken voor HP14 classificatie op basis van de ernst van de gemeten toxiciteit. Door biotesten uit te voeren op afvalstoffen die chemisch goed gekarakteriseerd zijn, kunnen biotestresultaten afgetoetst worden aan de classificatie op basis van de chemische samenstelling. Op basis daarvan wordt een kader voorgesteld dat gebruikt kan worden voor de HP14 classificatie van complexe, onvolledig gekarakteriseerde afvalstoffen. In dit werk werden 10 afvalstoffen onderzocht. | |
| 6 <i>Aantal bladzijden:</i> 42 | 7 <i>Aantal tabellen en figuren:</i> 24 tabellen/8 figuren |
| 8 <i>Datum publicatie:</i>
2018 | 9 <i>Prijs*:</i> / |
| 10 <i>Begeleidingsgroep en/of auteur:</i>
Reinhilde Weltens (VITO) | 11 <i>Contactpersonen:</i>
Evi Rossi (evi.rossi@ovam.be)/Koen Smeets
(koen.smeets@ovam.be) |
| 12 <i>Andere titels over dit onderwerp:</i> /
xxxx | |

U hebt het recht deze brochure te downloaden, te printen en digitaal te verspreiden. U hebt niet het recht deze aan te passen of voor commerciële doeleinden te gebruiken.

De meeste OVAM-publicaties kunt u raadplegen en/of downloaden op de OVAM-website:
<http://www.ovam.be>

* *Prijswijzigingen voorbehouden.*

INHOUD

1. Inleiding	6
2. Methoden	6
2.1. Afvalmonsters	6
2.1.1. Beschrijving	7
2.1.2. Monsterbehandelingen	7
2.2. Biotesten op eluaten	9
2.2.1. Microtox® - ISO 11348-3	9
2.2.2. Algen groei-inhibitietest – gebaseerd op OECD 201.	9
2.2.3. Acute daphnia immobiliteitstest – gebaseerd op OECD 202.	10
2.3. Biotesten op extract	11
2.3.1. Microtox (zie boven)	11
2.3.2. Screening voor oestrogene activiteit	11
2.3.3. AMES II screening voor genotoxische activiteit	11
2.4. Biotesten op de vaste fase	12
2.4.1. Plantengroei-test 1 species – gebaseerd op OECD 208	13
2.4.2. Arthrobactertest – gebaseerd op ISO18187	13
2.5. Toxiciteitsevaluatie	13
2.6. Chemische analyses	14
2.6.1. Anorganische analysemethoden	14
2.6.2. Organische analysemethoden	14
2.7. HP classificatie op basis van de chemische gegevens	16
3. Resultaten	17
3.1. Chemische analyses	17
3.1.1. Algemene samenstelling	17
3.1.2. Organische componenten	18
3.1.3. Anorganische componenten (elementanalyses)	19
3.1.4. Massabalans	20
3.2. Biotesten op eluaten	21
3.2.1. Microtox	21
3.2.2. Daphnia	23
3.2.3. Algen	25
3.3. Biotesten op extracten	27
3.3.1. Microtox	27
3.3.2. Hormonale screening (MVLN)	27
3.3.3. Screening genotoxische stoffen (Ames II)	27
3.4. Biotesten op vaste fase	28
3.4.1. Compostworm Avoidance test	28
3.4.2. Tuinkers: kiem- en groei-test	28
3.4.3. Arthrobactertest	29

3.5.	<i>Classificatie</i>	29
3.5.1.	Samenvatting ecotoxiciteitstesten en classificatie	29
3.5.2.	HP14 classificatie op basis van de samenstelling (WFD).	31
3.5.3.	HP14 classificatie: Biologisch en chemisch!	32
4.	Conclusies	35
6.	Summary	37
7.	Samenvatting	39
8.	Bibliografie	42

1. INLEIDING

In eerdere studies (OVAM, 2013, Ineris, 2012) werd vastgesteld dat de HP14 gevaarsbeoordeling (gevaar voor het leefmilieu) van complexe afvalstoffen op basis van chemische gegevens vaak niet eenvoudig is omwille van:

- onvoldoende gemeten parameters; vooral gegevens over organische contaminanten ontbreken vaak of zijn beperkt tot een aantal groepsparameters die niet relevant zijn voor gevaarsbeoordeling.
- de speciatie van metalen die niet gekend is en waardoor de ecotoxiciteit mogelijk hoger (*worst case*) wordt ingeschat dan ze in werkelijkheid is.

Beoordeling op basis van biotesten die direct op het afval zelf worden uitgevoerd, kan een alternatief zijn om de ecotoxiciteit van het materiaal objectief vast te stellen. Er is consensus wat betreft de samenstelling van de testbatterij, maar er ontbreken nog duidelijke grenswaarden voor HP14 classificatie op basis van de ernst van de gemeten toxiciteit. Door biotesten uit te voeren op afvalstoffen die chemisch goed gekarakteriseerd zijn, kunnen biotestresultaten afgetoetst worden aan de classificatie op basis van de chemische samenstelling. Op basis van dit soort gegevens kan het classificatiekader ontwikkeld worden. In dit project werden daarom voor 10 complexe afvalstoffen uitgebreide gepaarde gegevens gegenereerd.

2. METHODEN

2.1. AFVALMONSTERS

De afvalmonsters werden door OVAM aan VITO bezorgd, behalve de monsters “stort” die reeds in 2012 werden genomen en behandeld. Tabel 1 geeft een overzicht.

Tabel 1: overzicht van de afvalstoffen die in deze studie onderzocht werden

Aard	EURALcode	VITO code
Shredder fluff	19 10 04	15C012
Filterkoek fysicochemische waterzuivering	19 03 04*	15C013
Waterzuiveringsslib (bioslib)	19 08 14	15C014
Grond TAG 1	17 03 01* bitumineuze mengsels die koolteer bevatten	15D005
Grond TAG 2	17 03 01* bitumineuze mengsels die koolteer bevatten	15D006
Grond TAG 3	17 03 01* bitumineuze mengsels die koolteer bevatten	15D007
Filterkoek 13/05	19 08 13* Filter cake industrial WWT	15E003
Filterkoek 16/05	19 08 13* Filter cake industrial WWT	15E004
Opgegraven afval	Fijne fractie industrieel afval VII Bz	12E029
Opgegraven afval	Fijne fractie industrieel afval II	12E030

2.1.1. Beschrijving

Tabel 2: beschrijving van de afvalstoffen die in deze studie onderzocht werden

15C012: shredder fluff	allerhande grove stukken materiaal (schroevendraaiers, rubber, plastic, metaal, draden, kabels)
15C013: fysicochemische filterkoek	droge grote brokken filterkoek (zwartbruin)
15C014: waterzuiveringslib	zwart vochtig materiaal dat in brokken aaneenplakt maar gemakkelijk gehomogeniseerd kan worden. Sterke stank.
15D005: grond TAG1	bodemmateriaal met veel stenen
15D006: grond TAG2	stukken asfalt
15D007: grond TAG3	bodemmateriaal met veel stenen
15E003: filterkoek	Vast hard materiaal
15E004: filterkoek	Vast hard materiaal, sterke stank
12E029: fijne fractie TM9 industrieel VIIbz/- 10 mm	Fijn droog materiaal
12E030: fijne fractie TM7 industrieel II /-10 mm	Fijn droog materiaal

2.1.2. Monsterbehandelingen

2.1.2.1. Eluaten voor biotesten

Stalen werden uit de emmers rechtstreeks genomen zonder enige voorbehandeling. Voor het shredder fluff werden van diverse materialen stukken afgeknipt.

Procedure: 200 g afval in 2L RO-water, 24h laten schudden bij 20°C en 50 rpm in het donker (incubator algen) Laten bezinken, eluaat decanteren en filtreren (0.22µ).

pH en conductiviteit van de eluaten werden gemeten (tabel 3).

Tabel 3: pH en conductiviteit in de eluaten

Eluaat	pH	Cond. (mS/cm)
15C012	8.17	0.122
15C013	10.59*	2.88
15C014	6.53	0.937
15D005	8.89	0.110
15D006	8.59	0.054
15D007	8.78	0.132
15E003	7.1	0.548
15E004	7.05	0.974
12E024	7.5	0.400
12E034	7.33	0.578
12E029	8.54	0.059
12E030	8.17	0.061

*pH hoger dan de tolerantiegrens van de biotesten (6-9)

Bereiding eluaten:

Stalen 15C0012/013/014 8-9/04/2015

Stalen 15D005/006/007 27-28/04/2015

Stalen 15^E003/00418-19/05/2015

Stalen 12^E024/034/029/030: 20-21/08/2015

2.1.2.2. Organische extracten

50 g afvalmonster en 50 g natriumsulfaat worden gemengd. Aan dit mengsel wordt 170 ml acteon/n-hexaan (50/50) toegevoegd en het geheel wordt gedurende 30 minuten in een ultrasoonbad geplaatst. De vloeibare fase wordt daarna gedecanteerd en over een glasvezelfilter (Whatman 589/1) gefilterd. De gefilterde vloeistof wordt in een rondbodemkolf gebracht.

Dit wordt nog 2 x herhaald waarbij alle vloeistoffen samen in dezelfde rondbodemkolf worden verzameld.

Het extract wordt droog gedampt in een warmwaterbad (60°C). Daarna wordt 5 ml DMSO toegevoegd. Dit wordt na licht verwarmen overgebracht in een glazen recipiënt en koel bewaard tot gebruik. De concentratie van het extract is dus 50 gequivalenten afval per 5 ml DMSO (10 geq/ml).

Een methodecontrole werd aangemaakt met 100 g natriumsulfaat.

Bereiding extracten:

9-11/06/2015 behalve 15C012 (geen extractie mogelijk door de aanwezigheid van plastic) en 15E004 dat op 7-10/07/2015 werd geëxtraheerd.

2.1.2.3. Verkleinen voor bodemtesten

De monsters werden mechanisch verkleind en gehomogeniseerd en over een 10 mm zeef afgezeefd. De fractie < 10 mm werd gebruikt voor de bodemtesten.

2.2. BIOTESTEN OP ELUATEN

(ruwe gegevens voor de biotesten zijn beschikbaar bij VITO)

2.2.1. Microtox® - ISO 11348-3

Species: *Vibrio fisheri*

Principe: *V. fisheri* is een mariene bacterie die spontaan licht geeft. Toxische stoffen inhiberen het metabolisme en daardoor ook de lichtemissie. De bacteriën worden toegevoegd aan de testdiluties en de afname in lichtintensiteit na 5, 15 en 30 minuten wordt vergeleken met deze in controle-omstandigheden.

Conditie:

De test wordt uitgevoerd volgens het standaardprotocol met het bijgeleverde materiaal van de Microtox®. De test werd met zoutcorrectie uitgevoerd.

Testconcentraties: 45-22.5-11.25 % eluaat (verdunningen in Microtox® diluent).

Monsters 12E029 en 12E030 werden enkel in een limiettest aan 45% getest.

De luminescentie wordt afgelezen met de ingebouwde luminometer.

Positieve controle: Fenol 107 mg/l (om te controleren of de test normaal reageert).

Resultaten (% reductie van de lichtsterkte) worden in een template berekend. Een controlestaal (enkel medium) wordt als referentie voor de normale evolutie van het lichtsignaal in functie van de tijd meegetest.

De EC50 waarde wordt berekend op de gegevens na 30 minuten blootstelling via lineaire interpolatie.

Testcodes:

MIC15009

MIC15010

MIC15012

MIC15017

2.2.2. Algen groei-inhibitietest – gebaseerd op OECD 201.

Species: *Pseudokirchneriella subcapitata*

Principe: eencellige groene algen worden in clutuur gebracht in controlemedium (JP4) en testoplossing(en) en de groeisnelheid tussen 0-72h wordt gemeten.

Conditie:

- Wegwerprecipieten (inhoud 500 ml) voorzien van luchtdoorlatende stop
- Inhoud: 95 ml eluaat of water (controle), 5 ml geconcentreerd OECD medium (20x), 100 µl algenstock (batch 2003/03 *Pseudokirchneriella subcapitata* –ong. 10^{E+7} cellen per ml)
- 3 replica's voor testcondities en 2 voor de abiotische controles, 6 replica's voor controle
- de testen werden uitgevoerd in incubatoren: 23°C, continue belichting (3000-4000 lux), toerental 100 rpm
- Testconcentraties: 95 - 47.5 – 23.72 – 11.86 – 5.93 % (95% van 100-50-25-12.5-6.25% eluaat)
- Startmeting van het aantal cellen met coulter counter/fluoroskan, dagelijkse meting met Fluoroskan.
- Berekeningen: toename in biomassa in functie van de tijd (groeicurven), specifieke groei, groeisnelheid.
- EC₅₀ voor groeisnelheid werd berekend via lineaire interpolatie.

Testcodes:

ALGE15013
ALGE15014
ALGE15015
ALGE15021

2.2.3. Acute daphnia immobiliteitstest – gebaseerd op OECD 202.

Species: *Daphnia magna* (watervlo)

Principe: pasgeboren watervlooiën (<24 h oud) worden blootgesteld aan controlemedium (JP4) en testoplossing(en) en de overleving na 48h wordt gemeten.

Conditie:

- Glazen bekken (inhoud 50 ml) voorzien van lichtdoorlatend los deksel
- Inhoud: 20 ml
- Verdunnings- en controlemedium: JP4
- 5 organismen (*Daphnia magna* neonaten < 24 h oud) per beker
- 4 replica's per testcondities, 6 replica's voor controle
- de testen werden uitgevoerd in lokaal BIOL-daphnia
- Temperatuur lokaal: 20.2°C +/- 0.2,
- Licht/donker: 16/8
- Testconcentraties: 100 – 50 – 25 - 12.5 - 6.25 % eluaat
- Controle op mobiele organismen: na 24h en 48 h blootstelling
- Berekeningen: EC₅₀ voor immobiliteit na 24 en 48 h indien mogelijk.
- EC₅₀ wordt berekend via lineaire interpolatie.

Testcodes:

DAC15005
DAC15006
DAC15007
DAC15009
DAC15013

2.3. BIOTESTEN OP EXTRACT

(ruwe gegevens voor de biotesten zijn beschikbaar bij VITO)

2.3.1. Microtox (zie boven)

De extracten in DMSO (10 geq/ml) werden serieel (1/2) verdund in DMSO.

De extracten werden eerst in een limiettest getest (1% in diluent; 5 µg in 500 µl diluent). Toxische extracten werden daarna in een gepaste verdunningsreeks getest.

Er werden eveneens telkens een blanco en solventcontrole meegetest, en de methodecontrole werd éénmaal getest.

Testcodes:

MIC15013

MIC15017

2.3.2. Screening voor oestrogene activiteit

Teststelsel: Humane borstkankercellen, die stabiel getransfecteerd werden met het ERE-βGlob-Luc-SVNeo gen. De getransfecteerde cellen bevatten een *Estrogen-Responsive-Element* gekoppeld aan een luciferase-reportergen.

Principe: Binding van stoffen met een oestrogene potentie aan de oestrogenreceptor (ER) leidt tot gentranscriptie o.a. van het luciferasereporter gen, waardoor het luciferase-enzym geproduceerd wordt. Wanneer er *Luciferase Assay Reagents* toegevoegd wordt zal het geproduceerde enzym dit omzetten waardoor er licht vrij komt. Dit licht kan gemeten worden m.b.v. een luminometer en is een maat voor de hoeveelheid stoffen met een oestrogene potentie die aanwezig is in het geteste milieumonster. De cellulaire assay wordt ook steeds opgezet met een controle voor cytotoxiciteit (celdood). Enkel bij concentraties die geen celdood veroorzaken zal op een correcte manier de oestrogene potentie berekend kunnen worden.

Evaluatie: Voor het testen van milieumonsters wordt meestal geopteerd voor een evaluatie na 20-24 u blootstelling.

Door de resultaten te vergelijken met deze die bekomen worden in een experimenteel vastgelegde oestradiol concentratie-responscurve kan het signaal voor oestrogene activiteit gekwantificeerd worden als oestradiol-equivalenten (ng/l E2-equiv.). Waarden boven 5 ng/l E2-equiv. worden als positief beschouwd (significante hoeveelheid oestradiolachtige stoffen).

2.3.3. AMES II screening voor genotoxische activiteit

Species: *Salmonella typhimurium TA98*

Principe: De Ames II test is een biologische test die in staat is om in mengsels de aanwezigheid van mutagene stoffen aan te tonen. Het testorganisme is de genetisch gemodificeerde *S. typhimurium-stam TA98*, die chemicaliën detecteert die frame-shift mutaties in DNA veroorzaken. De test werd uitgevoerd met en zonder het metabole mengsel S9, waarmee onderzocht wordt of ogenschijnlijk niet genotoxische preparaten mogelijk toch genotoxisch worden wanneer zij via metabolisatie in andere componenten worden omgezet.

Uitvoering:

- testkit: op de SPE extracten van afvalwaters en 2 blanco waters (Spa flessenwater) wordt de Ames II test uitgevoerd (bacteriestam TA98; zonder S9), volgens het Xenometrix protocol. (testconcentraties: 10 kgeq/l extract wordt 25 x verdund in Ames II test, dus finale concentratie is 400 geq/l).

Evaluatie: een verhoogde inductie van het aantal mutaties ten opzichte van de controle (Inductiefactor IF over basislijn) van tenminste 2x wijst op de aanwezigheid van genotoxische stoffen in het extract.

2.4. BIOTESTEN OP DE VASTE FASE

(ruwe gegevens voor de biotesten zijn beschikbaar bij VITO)

Monster 15C012 (fluff is te grof – te vreemd materiaal om als bodem te fungeren) en 15C014 (geur) waren niet geschikt voor deze testen.

Compostworm Avoidance test - gebaseerd op ISO17512-1 (2007)

Species: *Eisenia fetida*

Principe: bakken worden aan de ene helft gevuld met controlebodem en aan de andere helft met de testbodem. 10 volwassen wormen worden op de scheiding aangebracht. Wormen zullen toxische bodems vermijden. Na 48 h wordt onderzocht of de wormen ad random dan wel selectief verdeeld zijn over beide helften.

Conditie:

De verkleinde en gehomogeniseerde monsters werden gemengd met OECD bodem (50/50 (test 1), 25/75 (test2) en 12.5/87.5 (test 3)).

Rechthoekige Plastiek dozen werden in 2 gedeeld met karton: aan de ene helft werd referentiebodem (OECD) aangebracht, aan de andere kant gemengde testbodem. Daarna wordt de scheidingswand weggenomen.

- 10 pieren werden per doos aangebracht op de scheidingslijn
- 3 replica's
- 48h blootstelling
- kamertemperatuur
- 16/8 dag/nacht.
- Testconcentraties: 50% tijdens de eerste test, toxische stalen werden ook aan 25% getest in test 2 en aan 12.5% in test 3
- Berekeningen: verdeling tussen beide compartimenten.
- Avoidance: ja (significant verschillend aantal in beide compartimenten) of neen (geen significant verschil)

Testcodes:

RAV15001 – 002 – 003

RAV16001

RAV16002

RAV16003

2.4.1. Plantengroeitest 1 species – gebaseerd op OECD 208

Species: *Lepidium sp* (tuinkers)

Principe: bloempotten worden gevuld met standaardbodem of testbodem. 10 tuinkerszaden worden aangebracht en na 4 dagen worden de gekiemde planten geoogst en gewogen. Toxische stoffen verhinderen soms kieming, of/en groei.

Conditie:

De verkleinde en gehomogeniseerde monsters werden gemengd met potgrond ((50/50) test 1), 25/75 (test2) en 12.5/87.5 (test 3))

- plastic bloempotjes
- 10 zaadjes per pot
- 3 replica's
- 4 d blootstelling onder groeilamp: 16/8 dag/nacht, vochtige atmosfeer
- kamertemperatuur
- Testconcentratie: limiettest bij 50%, toxische stalen werden ook aan 25% getest in test 2 en aan 12.5% in test 3
- Berekeningen: percent gekiemd, gemiddelde biomassa per gekiemde plant na 4 dagen

Testcodes:

PLG15001

PLG16003

PLG16004

2.4.2. Arthrobacteretest – gebaseerd op ISO18187

Deze test werd uitgevoerd bij ECT. Zie bijlage3 voor het rapport met methodebeschrijving.

2.5. TOXICITEITSEVALUATIE

Er zijn nog geen limietwaarden vastgelegd voor maximaal toelaatbare toxiciteit van afval met behulp van biotesten.

Pandard en Römbke (2013) stellen de LID benadering voor: het monster verdunnen tot de effecten niet langer significant zijn (LID = lowest ineffective dilution) en als limietwaarde voor toxiciteit $LID \leq 8$. Deze limietwaarde houdt in dat 12.5% eluaat of vaste stof (Dilutie 8x, DIL 8) geen effect groter dan het aangegeven effect in tabel 4 veroorzaakt. In deze studie werden de testresultaten bij DIL 4 en DIL 8 getoetst aan de chemische samenstelling en classificatie.

Tabel 4: grenswaarden voor toxiciteit (Pandard en Römbke, 2013)

	Test	Positief als het effect bij verdunning 1/8
Aquatische testen	Microtox	≥ 20 %
	Algen	≥ 25 %
	Daphnia	≥ 20 %
bodentesten	Arthrobacter	≥ 30 %
	Eisenia	≥ 80 %
	Planten	≥ 30 %

In eerder werk (Discriset) werd voor *extracten* een limiet voor EC₅₀ gehanteerd van 6 geq/l (6 % extract) (Weltens et al., 2014).

2.6. CHEMISCHE ANALYSEN

2.6.1. Anorganische analysemethoden

Tabel 5: Overzicht van de anorganische analysemethoden

Parameter	Methode
Droog stofgehalte	WAC/III/A/002
Asrest	CMA/2/II/A1
Metalen	EN 12506:2003 Characterization of waste – Analysis of eluates – Determination of pH, As, Ba, Cd, Cl-, Co, Cr, Cr VI, Cu, Mo, Ni, NO ₂ -, Pb, total S, SO ₄ ²⁻ , V and Zn (Enkel op eluaat van monster 15C012)
Hg	EPA 7473 Mercury in soDILs and solutions by thermal decomposition amalgamation and atomic absorption spectrometry
Elementcompositie	EN 15309:2007 Characterization of waste and soil – Determination of elemental composition by X-ray fluorescence (Testen werden uitgevoerd op gedroogd, verpulverd materiaal)
C, H, N, S	CEN/TS 15407:2006 SoDIL recovered fuels – Method for the determination of carbon ©, hydrogen (H) and nitrogen (N) content

2.6.2. Organische analysemethoden

2.6.2.1. TOC

NPOC (Not Purgeable Organic Carbon) wordt bepaald. Dit is een maat voor de niet vluchtige organische koolstoffractie in water. De TIC (Total Inorganic Carbon) wordt voorafgaand aan de meting verwijderd door aanzuren met 1% HCl 2N en vervolgens te purgeren met zuurstof. Vervolgens wordt de fractie NPOC bepaald door katalytische verbranding van het monster bij 800 °C onder zuurstofatmosfeer. Het gevormde CO₂ wordt rechtstreeks gemeten d.m.v. infrarood spectrometrie.

2.6.2.2. GC-MS

Een analysemethode waarmee chemische mengsels gescheiden kunnen worden in afzonderlijke componenten (GC) gebaseerd op hun kookpunt, en die vervolgens massaspectrometrisch (MS) kunnen worden geïdentificeerd (via databanken) en gekwantificeerd. Alleen die verbindingen die vervluchtigen bij een temperatuur < 400°C en thermisch stabiel zijn, kunnen geïdentificeerd worden. Met de GC-MS techniek werd gescreend naar vluchtige verbindingen na dampfasebemonstering (headspace) en naar semi-vluchtige verbindingen na extractie.

GC-MS screening van semi-vluchtige verbindingen

Monsteropwerking

Het staal wordt gehomogeniseerd; indien nodig wordt eerst de deeltjesgrootte verkleind tot <1 mm door cryogene vermaling. 10 g van het (meng)staal wordt ultrasoon geëxtraheerd met 10 g aceton gedurende 1 h. Men laat de vaste fase bezinken en brengt 1 ml van de bovenstaande oplossing over in een injectievial. Hieraan voegt men 20 ng 4.4' dibroombifenyl toe als interne standaard voor de kwantificatie.

Meting

De meting werd uitgevoerd met een quadrupool type Thermo Trace GC-MS uitgerust met een CTC CombiPal autosampler. Hieronder zijn typische instellingen van de gaschromatograaf en de massaspectrometer weergegeven voor de screeninganalyse:

Kolom:	DB-5ms (of equivalent), 60 m x 0.25 mm x 0.25 µm
Draaggas en modus:	Helium, constant debiet 1 ml/min
Interfacetemperatuur:	280 °C
Split vent:	30 ml/min
Injectiemodus:	Splitless (purge on na 1 min)
Injectietemperatuur:	300 °C
Injectievolume:	1 µl vloeistof
Temperatuursprogramma:	
40 °C:	isotherm gedurende 1 min
40 °C → 320 °C:	10°C/min
320 °C:	isotherm gedurende 16 min
totale duur:	45 min
MS brontemperatuur:	230 °C
Electronenenergie:	70 eV
Scanrange:	40 – 500 m/z
Scansnelheid:	2,3 scans/sec

GC-MS screening van vluchtige verbindingen

Monsteropwerking

Aan 10 g gehomogeniseerd monster werd 10 g methanol toegevoegd. Het geheel werd 1u gesoniceerd en vervolgens 1 uur geschud op de schudbank. Na centrifugatie werd 0.5 ml methanolextract overgebracht naar een headspacevial die 1.5 g NaCl en 4.5 g mineraal water bevat. Verschillende isotoopgemerkte interne standaarden werden toegevoegd voor de kwantificatie.

Meting

De meting werd uitgevoerd met een Agilent HS-GC-MS configuratie bestaande uit een Agilent G1888 Headspace Sampler, een HP 6890 gaschromatograaf en een HP 5973 massaspectrometer. Hieronder zijn typische instellingen van de gaschromatograaf en de massaspectrometer weergegeven voor de screeninganalyse:

Kolom : HP-VOC, 30m x 0.20mmx1.12µm

Preconcentrerings :

Oventemperatuur : 70°C
Looptemperatuur : 120°C
Transferleidingtemp. : 130°C
Thermostatisatieduur : 25 min
Pressurization druk : 150 kPa
Pressurization duur : 0.25 min
Loopvulling duur : 0.5 min
Injectieduur : 2 min

GC-instellingen :

Draaggas: Helium , constant flow 1ml/min
Split ratio : 25
split flow : 25 ml/min
Kolom flow : 1.0 ml/min
Temperatuursprogramma:
35°C 3 min
35°C → 170°C 5°C/min
totale duur : 30min

MS-instellingen :

Brontemperatuur : 230°C
Elektronenenergie : 70 eV
Scan range: 20-250 m/z

2.7. HP CLASSIFICATIE OP BASIS VAN DE CHEMISCHE GEGEVENS

De methode voor classificatie staat beschreven in het OVAM rapport "Europese afvalstoffenlijst EURAL Handleiding" hoofdstuk 7 (OVAM, 2015). Enkel de toxicologisch relevante HP criteria werden getoetst.

Modelstoffen: voor de metalen werden de chloorzouten gebruikt behalve voor Cr werd Cr2O5 genomen (worst case) , voor S sulfaat, voor P fosfaat, voor Fe, Al, Mn en Ti de meer relevante oxiden Fe₂O₃, MnO, Al₂O₃ en TiO₃.

Voor de H-classificatie werd de stoffenlijst in bijlage 4 bij de EURAL Handleiding (OVAM 2015) gebruikt. Voor componenten die niet op de lijst voorkomen werden de classificaties in de C&L inventaris opgezocht. <http://echa.europa.eu/nl/regulations/clp/cl-inventory>

3. RESULTATEN

3.1. CHEMISCHE ANALYSEN

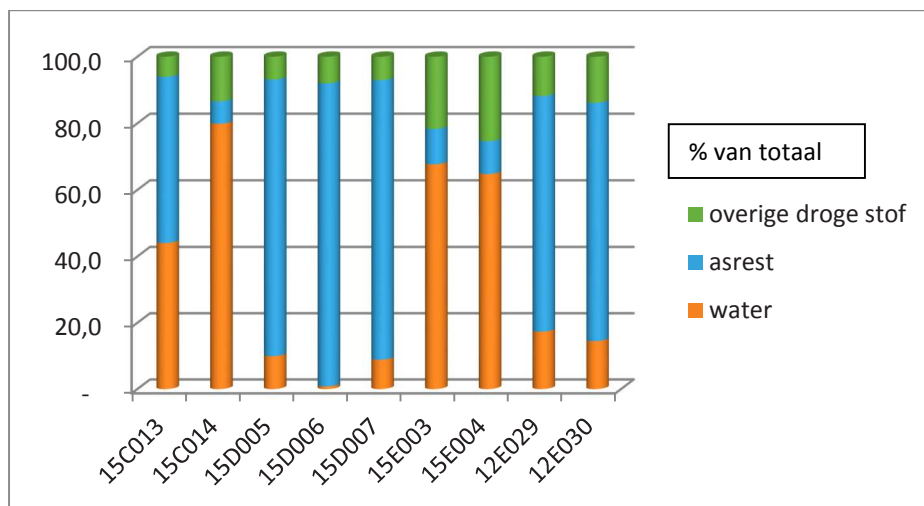
3.1.1. Algemene samenstelling

Ruwe gegevens in bijlage 1.

Figuur 1 geeft een overzicht van de algemene samenstelling van de monsters op basis van asrest en drooggewicht (bijlage 1).

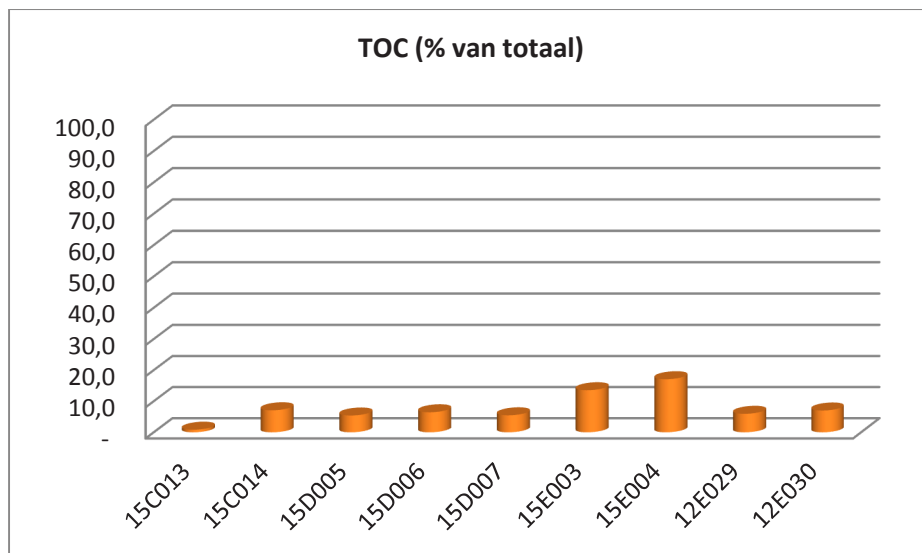
Monster 15C012 (shredder fluff) kon vanwege zijn specifieke aard niet geanalyseerd worden (te diverse materialen).

Figuur 1: Water en droge stof (asrest + overige)



Het % TOC van totaal werd berekend op basis van %TOC en %drooggewicht (figuur 2).

Figuur 2: TOC in de diverse monsters.



3.1.2. Organische componenten

Ruwe gegevens in bijlage 2.

De teruggevonden organische componenten vormen slechts een marginaal deel van de droge stof (tabel 6: kolommen 4 en 6) en zijn ook lager dan verwacht op basis van TOC (tabel 6: kolom 7 = TOC, zou de optelsom van kolommen 4 en 6 moeten zijn indien alle componenten teruggevonden worden).

Tabel 6: Organische componenten (% van DS)(ng = niet gemeten)

	OSCG		% van DS	HS		TOC	
	onbekend (mg/kg)	geïdentificeerd (mg/kg)		mg/kg	% van DS	% van DS	
15C012	545	12360	1,29				ng
15C013	582	2185	0,28	13,3	0,00		0,8
15C014	873	286	0,12	122	0,01		7,1
15D005	409	560	0,10				5,4
15D006	726	596	0,13				6,4
15D007	133	164	0,03				5,5
15 ^F 003	316	14	0,03	71	0,01		13,5
15 ^F 004	930	681	0,16	482	0,05		17,1
12 ^F 029	49	114	0,02				6
12 ^F 030	304	394	0,07				7

De GC-MS methode is geschikt om verbindingen te detecteren die vervluchtigen bij een temperatuur < 300°C en thermisch stabiel zijn. Een deel van de organische componenten wordt daardoor niet opgemerkt in deze analyses.

3.1.3. Anorganische componenten (elementanalyses)

Tabel 7 geeft de concentraties van de verschillende elementen, gemeten met XRF op de vaste stof. Hoge waarden zijn aangeduid in het rood. Vooral in monster 15C013 komen extreem hoge waarden van Hg en S voor.

Tabel 7: XRF Elementanalyses (vaste stof) (in het rood: hoge waarden)

element	eenheid	150723-0090	150723-0091	150723-0092	150723-0093	150723-0094	150723-0095	150723-0096	150723-0097	150723-0098
		15C013	15C014	15D005	15D006	15D007	15E003	15E004	12E029	12E030
Na	%	<0,1	0,51	0,56	0,26	0,28	<0,1	<0,1	0,93	0,74
Mg	%	2,07	0,11	0,91	0,58	0,79	0,15	<0,1	0,5	0,23
Al	%	0,37	3,23	3,27	1,68	2,46	1,05	2,07	4,12	1,85
Si	%	0,77	3,36	19,2	13,9	15,5	1,26	1,29	12,8	8,21
P	%	<0,1	1,63	<0,1	<0,1	<0,1	0,79	0,48	0,22	0,11
S	mg/kg	118000	12200	6520	6180	7310	6180	7410	5500	11400
Cl	mg/kg	15800	5340	242	236	208	4970	6850	1490	3280
K	%	<0,1	0,41	1,13	0,64	0,77	0,18	0,11	0,55	0,31
Ca	%	29,2	1,52	6,92	13,4	10,6	4,32	2,36	5,83	4,09
Ti	%	0,03	0,69	0,2	0,09	0,15	0,64	0,22	0,34	0,44
V	mg/kg	<20	29,2	87	80,4	90,8	37,6	55,8	98,4	44,9
Cr	mg/kg	828	176	74,5	33,2	71,2	301	392	811	969
Mn	mg/kg	437	634	388	223	338	567	523	1640	2490
Fe	%	3,05	4,08	1,93	1,1	1,55	5,07	5,55	11,9	17,4
Co	mg/kg	<10	15,8	17,7	<10	<10	19,5	32	14,7	67,3
Ni	mg/kg	338	122	21,3	14,4	17,1	128	171	347	456
Cu	mg/kg	253	808	31,1	7,7	20,6	358	316	4720	6380
Zn	mg/kg	2070	1740	185	45,8	91,9	12900	4080	11900	23000
As	mg/kg	8,2	13,6	5,1	<5	<5	7,6	20,1	63,7	66
Se	mg/kg	21,6	<5	<5	<5	<5	<5	15,6	8,1	8,8
Br	mg/kg	870	210	5,1	<5	<5	1640	643	135	72,1
Rb	mg/kg	<5	14,6	47,4	34,6	36,8	<5	<5	24,4	20,3
Sr	mg/kg	542	134	150	185	220	291	64,4	371	375
Y	mg/kg	<5	6,8	14	11,7	15,1	<5	<5	8,3	6,6
Zr	mg/kg	<10	75	156	80	158	13,5	26,6	152	120
Nb	mg/kg	<5	<5	7	<5	<5	<5	6,5	14,3	10,4
Mo	mg/kg	56,3	13,3	<5	<5	<5	19,6	72,2	96,1	66,5
Cd	mg/kg	51	9,9	<5	<5	<5	33,7	31,3	124	98,6
Sn	mg/kg	137	20,4	7,1	<5	<5	47,8	908	298	310
Sb	mg/kg	432	5,4	<5	<5	<5	229	39,5	268	144
Ba	mg/kg	53,8	394	326	246	318	261	323	3920	4270
Hg	mg/kg	5290	7,3	<5	<5	<5	12,3	10,3	12,6	19,1
Tl	mg/kg	47,3	<5	<5	<5	<5	6,9	7	28,4	21,1
Pb	mg/kg	518	63,6	68	20,9	37,1	634	631	4760	4050

De metalen in monster 15C012 werden enkel gemeten op de uitloogfractie (L/S = 10; 24h) met ICP-AES (tabel 8). Er is weinig uitloging.

Tabel 8: metalen in het eluaat van monster 15C012

Element	mg/kg	Element	mg/kg
Aluminium	1.0	Molybdeen	0.12
Antimoon	0.13	Natrium	57
Arseen	<0,010	Nikkel	0.022
Barium	0.36	Seleen	<0,040
Beryllium	<0.005	Strontium	0.27
Cadmium	0.0025	Tin	0.027
Calcium	69	Titaan	0.037
Chroom	<0,010	Vanadium	<0,010
Ijzer	0.44	Zink	0.41
Kalium	25		
Kobalt	<0,010		
Koper	0.25		
Lood	0.11		
Magnesium	85		
Mangaan	0.67		

3.1.4. Massabalans

Voor het berekenen van de massabalans werd op basis van de elementanalyses de massa van de anorganische componenten berekend. Voor Na, Mg, Al, Si, K, Ca, Ti, Mn, Fe en Zr werden de molecuulgewichten van de volgende oxiden gebruikt: Na₂O, MgO, Al₂O₃, SiO₂, K₂O, CaO, TiO₂, MnO, Fe₂O₃ en ZrO₂. Tabel 9 vat de resultaten samen.

De som van % water, % TOC en % anorganisch vertegenwoordigt de massa van de monsters, en zou in principe 100% moeten bedragen indien de anorganische analyses effectief elke component hebben gedetecteerd.

Tabel 9: Massabalans op basis van DS, TOC en anorganische componenten

% van totaal	15C013	15C014	15D005	15D006	15D007	15E003	15E004	12E029	12E030
H ₂ O	44,1	79,9	9,9	0,8	8,9	67,7	64,8	17,4	14,5
TOC	0,8	7,1	5,4	6,4	5,5	13,5	17,1	6,0	7,0
anorganisch	39,5	8,2	68,1	61,6	60,9	10,5	11,7	78,0	76,8
SOM	84,5	95,2	83,4	68,8	75,2	91,8	93,5	101,3	98,3

De massabalans op basis van TOC, water en de anorganische componenten is vrij goed (80-90%) tot goed (90-100%), behalve voor de monsters 15D006 en 15D007, waar een substantieel gedeelte ontbreekt.

Zoals eerder opgemerkt is van de gemeten TOC slechts een klein gedeelte effectief geïdentificeerd (tabel 6).

3.2. BIOTESTEN OP ELUATEN

De eluaten werden bereid met 100 g afval per liter water en bevatten daarom de oplosbare fractie van 100 gequivalenten afval per liter (100 geq/l). Tabel 10 geeft de conductiviteit en pH in de eluaten weer. Er is geen overschrijding van de randvoorwaarden voor de biotesten. Het zuurstofgehalte in 15E003 is wel laag (organische belasting; zie ook figuur 2) en kan in de hoogste testconcentraties een nadelig effect hebben in daphnia en microtoxtest.

De conductiviteit is een maat voor de uitloging van ionen.

Tabel 10: pH en conductiviteit van de eluaten (L/S10 in water).

	15C012	15C013	15C014	15D005	15D006	15D007	15E003*	15E004*	12E029	12E030
pH	7.98	7.93	7.91	8.32	7.87	8.36	7.7	7.6	7.76	7.8
Conductiviteit ($\mu\text{S}/\text{cm}$)	111	1141	636	110	54	54	548	974	59	61

*Laag zuurstofgehalte (18% in 003 en 64% in 004)

3.2.1. Microtox

Figuur 3 toont de resultaten van de uitgevoerde microtoxtesten.

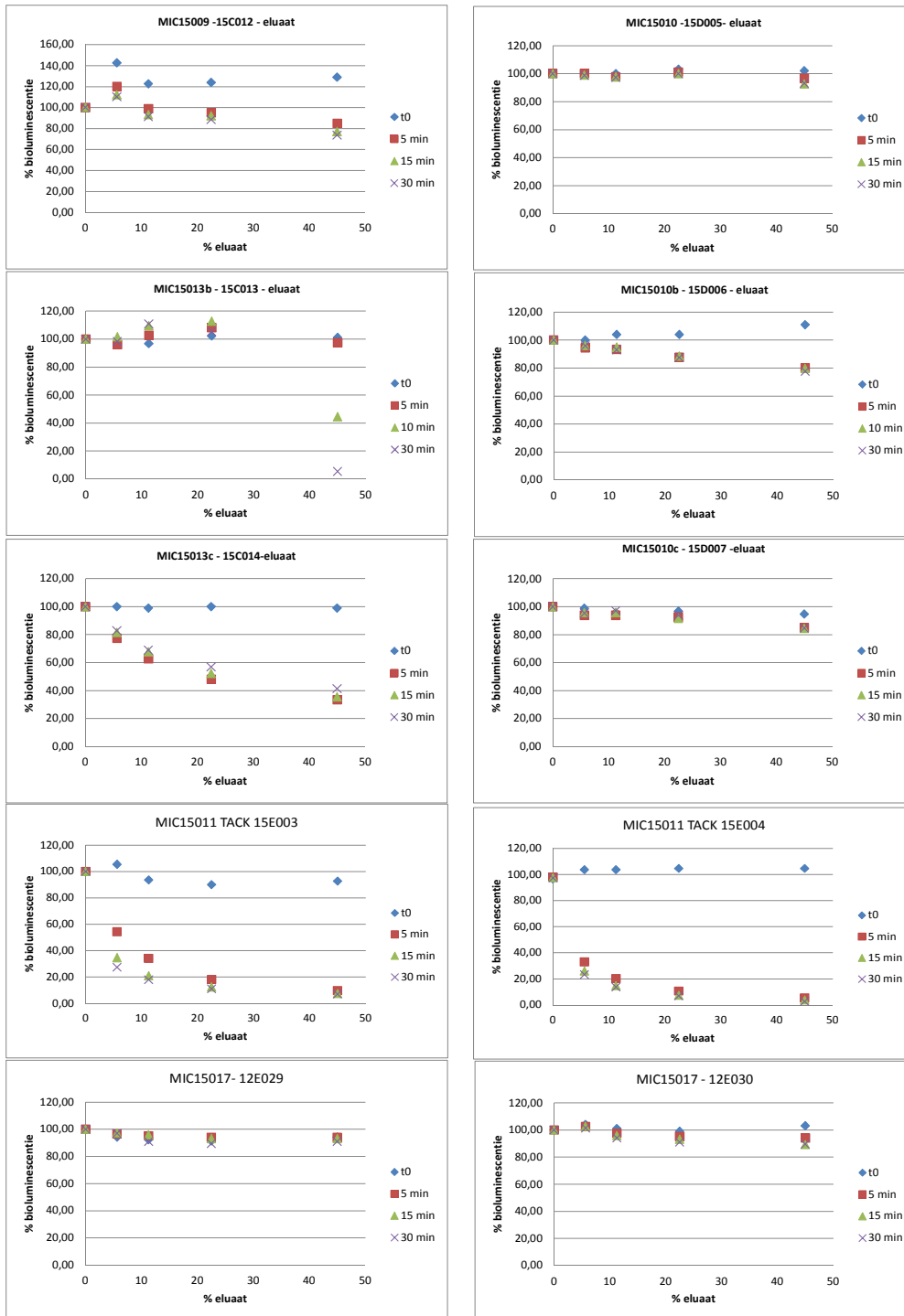
Tabel 11 geeft een overzicht van de effectwaarden na 30 minuten blootstelling. De testconcentraties in de microtox waren 45 – 22.5 – 11.25 – 5.625 % eluaat. In tabel 8 worden de effecten bij 22.5% gerapporteerd voor de DIL 4 toetsing.

Tabel 11: Effectwaarden microtox voor de eluaten (L/S 10) (ns: niet significant verschillend van de controles; in het geel: overschrijding van de toxiciteitslimiet > 20% (zie tabel 4))

	15C012	15C013	15C014	15D005	15D006	15D007	15E003	15E004	12E029	12E030
EC50 (% eluaat)	>	30	17	>	>	>	<5.62	<5.62	>	>
% effect bij verduunning 4	ns	ns	43	ns	30	ns	89	94	ns	ns
% effect bij verduunning 8	ns	ns	31	ns	23	ns	82	87	ns	ns

Op basis beide diluties (4x en 8x) zijn 4 van de monsters positief.

Figuur 3: Overzicht van de microtoxtesten op eluaten



3.2.2. Daphnia

Figuur 4 toont de resultaten van de uitgevoerde daphniatesten.

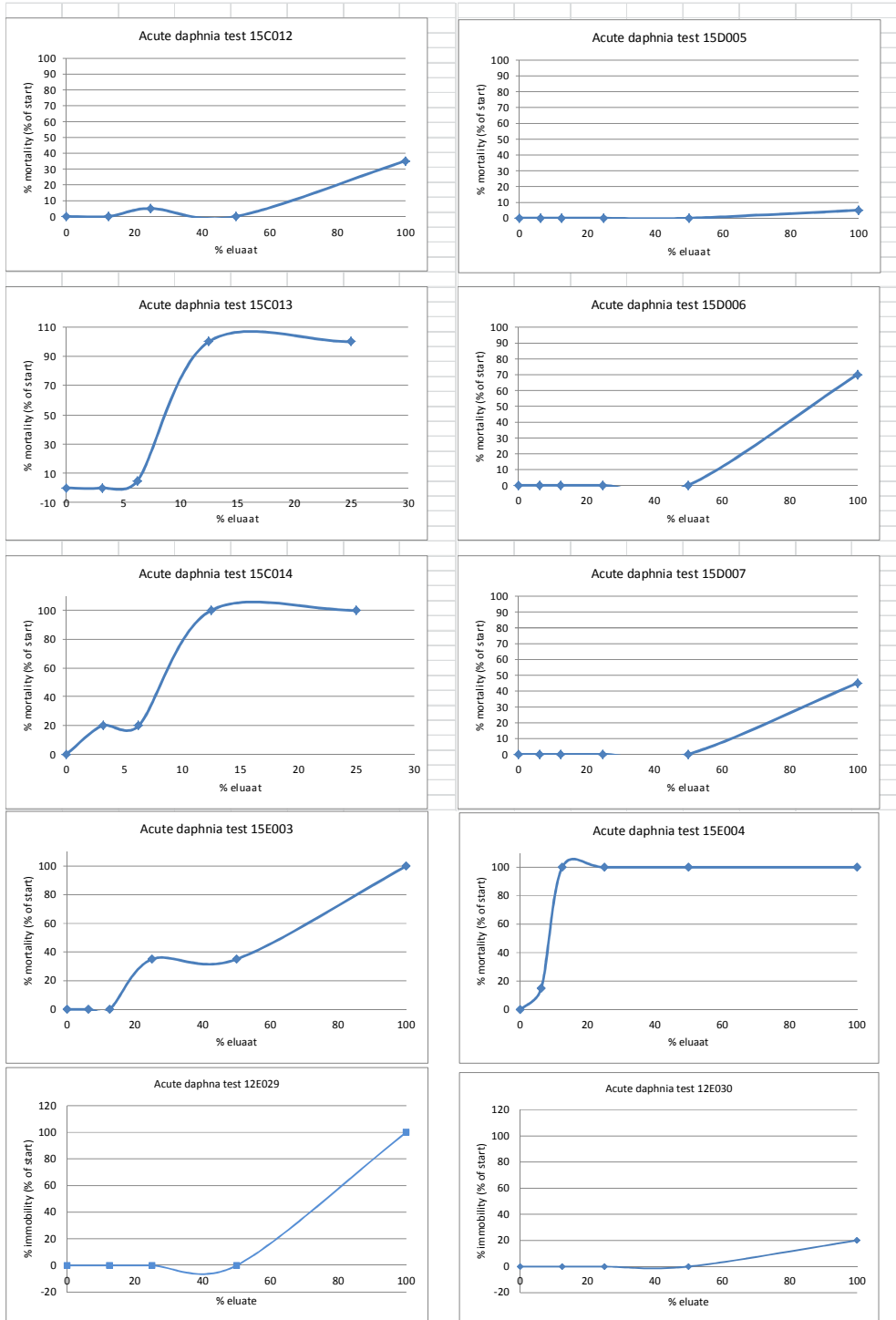
Tabel 12 geeft een overzicht van de effectwaarden na 48 uur blootstelling. De testconcentraties in de daphniatest waren 100-50-25-12.5-6.25 % eluaat. In tabel 12 worden de effecten bij 25% en 12.5% gerapporteerd voor de DIL 4 en DIL 8 toetsing.

Tabel 12: Effectwaarden daphniatest (L/S 10) (ns: niet significant verschillend van de controles; in het geel: overschrijding van de toxiciteitslimiet > 20% (zie tabel 4))

	15C012	15C013	15C014	15D005	15D006	15D007	15 ^E 003	15 ^E 004	12 ^E 029	12 ^E 030
EC50 (% eluaat)	>	9.21	8.59	>	86	>	61.5	8.82	75	>
% effect bij verdunning 4	ns	95	100	ns	ns	ns	35	100	ns	ns
% effect bij verdunning 8	ns	100	100	ns	ns	ns	ns	100	ns	ns

Op basis van DIL 4 en 8 zijn respectievelijk 4 en 3 monsters positief in deze test.

Fig.4: Effecten in de klassieke acute Daphnia test (48h)



3.2.3. Algen

Fig. 5 toont de resultaten van de uitgevoerde algentesten.

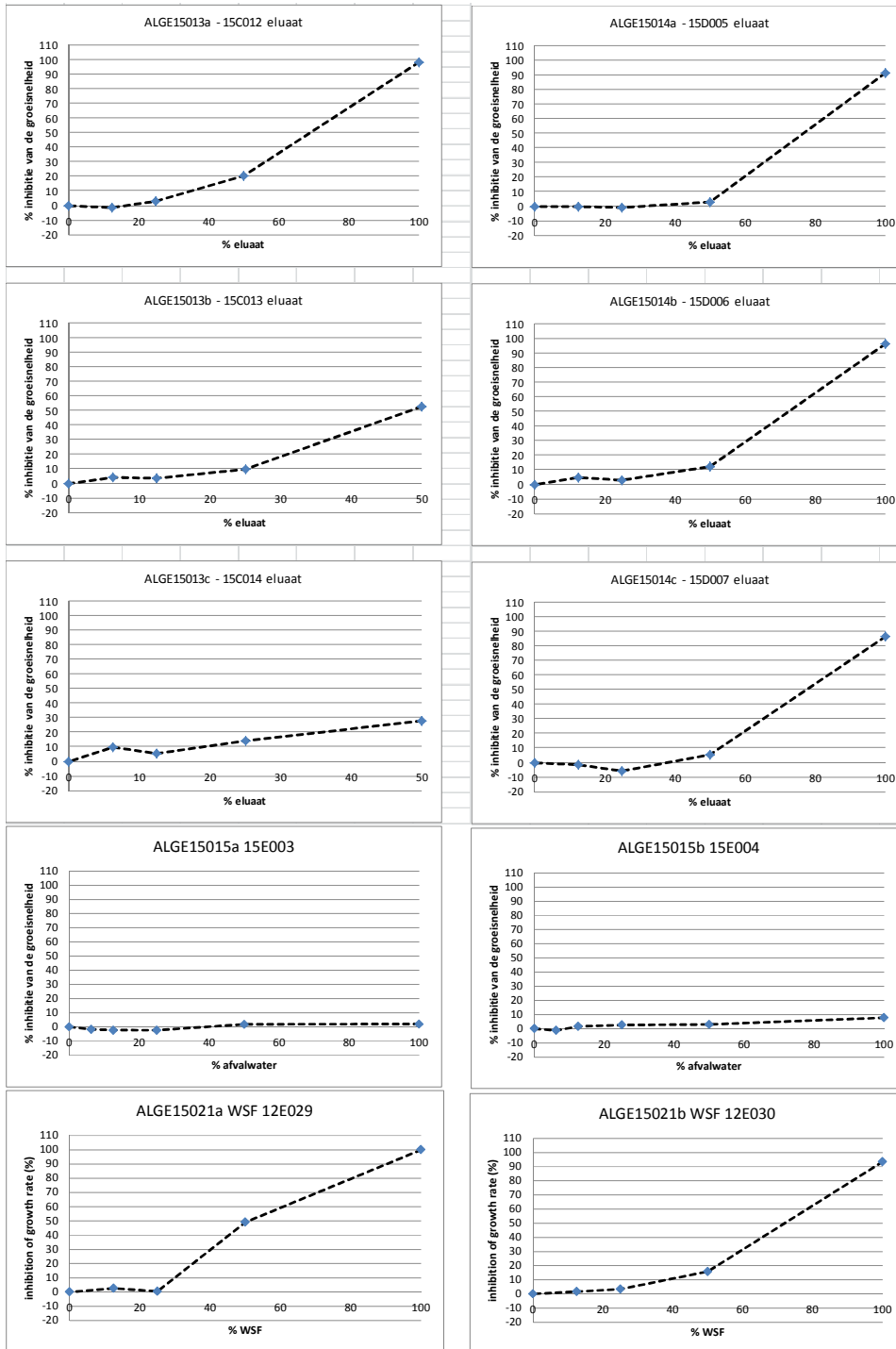
Tabel 13 geeft een overzicht van de effectwaarden na 72 h blootstelling en de toetsing aan de toxiciteitslimieten. De testconcentraties in de algentest waren 95 – 47.5 – 23.72 – 11.86 – 5.93 % eluaat. In tabel 13 worden de effecten bij 23.7 % en 11.86% gerapporteerd voor de DIL 4 en DIL 8 toetsing.

Tabel 13: Effectwaarden algentest (L/S 10) (ns: niet significant verschillend van de controles; in het geel: overschrijding van de toxiciteitslimiet > 25% (zie tabel 4))

	15C012	15C013	15C014	15D005	15D006	15D007	15E003	15E004	12E029	12E030
EC50 (% eluaat)	69	48	>	77	72	77	>	>	51	72
% effect bij verdunning 4	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns
% effect bij verdunning 8	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns

Op basis DIL 4 en 8 zijn er geen positieve monsters in de algentest. Nochtans zijn er duidelijke effecten – tot zelfs 100% inhibitie – in de hoogste testconcentratie (fig.5).

Fig.5: effecten in de klassieke acute algentest (72h)



3.3. BIOTESTEN OP EXTRACTEN

3.3.1. Microtox

De extracten hebben een concentratie van 10 geq/ml of 10 kgeq/l. Ze werden aan 1% getest: de hoogste testconcentratie is dus 100 geq/l, en bevat de extraheerbare organische stoffen uit 100 g afval per l, net zoals de hoogste testconcentraties van de eluaten de wateroplosbare uitlogende stoffen uit 100 g afval bevatten.

Tabel 14 geeft een overzicht van de effectwaarden na 30 minuten blootstelling en de toetsing aan de verschillende toxiciteitslimieten. In tabel 14 worden de effecten bij 25 en 12.5 % gerapporteerd voor de DIL 4 en DIL 8 toetsing.

Tabel 14: Effectwaarden microtox voor extracten ((ns: niet significant verschillend van de controles; in het geel overschrijding van de toxiciteitslimiet > 25% (zie tabel 4))(ng = niet getest)

	15C012	15C013	15C014	15D005	15D006	15D007	15E003	15E004*	12E029*	12E030*
EC50 (geq)	ng	>	20	50	10	>	<3.95	tox	tox	>
% effect bij 25 geq/l extract	ng	ns	53	ng**	65	ns	95	ng	ng	ns
% effect bij 12.5 geq/l extract	ng	ns	45	ng	55	ns	91	ng	ng	ns

*15E004: geen verdunningen getest, 100% effect in 100 geq/l; *12E029: geen verdunningen getest, 75 % inhibitie in 100 geq/l; *12E030: geen verdunningen getest, geen significant effect in 100 geq/l; ** 15D005: geen verdunningen beneden EC50 getest

Op basis van DIL 4 en 8 zijn er 3 positieve monsters in deze test, (mogelijk zijn ook 15E004 en 12E029 positief maar om technische reden werden van deze monsters geen verdunningen getest).

3.3.2. Hormonale screening (MVLN)

Tabel 15 geeft een overzicht van de resultaten. Enkel in het extract van monster 15E004 werd een verhoogde hoeveelheid oestradiol-equivalenten teruggevonden.

Tabel 15: Oestradiol-equivalenten (ng = niet getest)(LOD: limit of detection); in het geel: significante verhoging

	15C012	15C013	15C014	15D005	15D006	15D007	15E003	15E004	12E029*	12E030*
Oestradiol-eq	ng	<LOD	1	0.9	0.6	0.6	0.5	5.1	0.7	2.5

3.3.3. Screening genotoxische stoffen (Ames II)

Tabel 16 geeft een overzicht van de resultaten. Zonder metabolisatie door S9 veroorzaakt geen enkel extract een verhoogde mutatiefrequentie. Met S9 echter zijn er 6 monsters waarvan het gemetaboliseerde extract een significante verhoging van het aantal mutaties veroorzaakt.

Tabel 16: Inductie door mutagene stoffen (ng = niet getest)(ns= niet significant); in het geel:significant effect

	15C012	15C013	15C014	15D005	15D006	15D007	15E003	15E004	12E029*	12E030*
Zonder S9	ng	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns
Met S9	ng	ns	ns	13.6	8.6	4.4	19.8	ns	11.4	2.8

3.4. BIOTESTEN OP VASTE FASE

3.4.1. Compostworm Avoidance test

Tabel 17 vat de resultaten samen. In deze test konden geen uitgebreide verdunningsreeksen getest worden omwille van de grote hoeveelheden toxisch afval die daardoor zouden ontstaan (bodem mengen met de afvalstoffen). EC₅₀ waarden konden daarom niet worden bepaald.

Tabel 17: Avoidance test met compostworm (% wormen teruggevonden in controle: ns = niet verschillend tussen beide helften = geen avoidance)(ng = niet getest)(in het geel: effect ≥ 80% ontwijking)

	15C012	15C013	15C014	15D005	15D006	15D007	15E003	15E004	12E029	12E030
50%	ng	100	ng	ns	70	ns	93	97	97	100
25%	ng	100	ng	ns	80	ns	100	100	ng*	ng*
12.5%	ng	97	ng	ns	ns	ns	100	100	ns	60

*niet getest vanwege te weinig materiaal, maar het effect is zo sterk in 50% dat er ook een effect bij 25% verwacht wordt.

3.4.2. Tuinkers: kiem- en groeitest

Er werden geen verdunningsreeksen getest (zie boven), en dus geen EC₅₀ waarden bepaald. De test werd uitgevoerd bij 50% monster (gemengd in commerciële potgrond). Toxische monsters werden opnieuw getest bij 25 en of 12.5%.

De kieming was volledig geremd door 15C013 en 15E004. Ook 15D006 inhibeert de kieming (19% inhibitie). In de overige testcondities was de kieming vergelijkbaar met die in de controles.

Tabel 18 vat de resultaten samen.

Tabel 18: tuinkers: % inhibitie van de biomassa per gekiemde plant ((ns: niet significant verschillend van de controles; in het geel: overschrijding van de toxiciteitslimiet > 30% (zie tabel 4))(ng = niet getest)(ns = niet significant)

	15C012	15C013	15C014	15D005	15D006	15D007	15E003	15E004	12E029	12E030
50%	ng	100 (geen kieming)	ng	ns	24	ns	42	100 (geen kieming)	52	45
25%	ng	48*	ng	ns	ns	ns	ns	61*	25*	15*
12.5%	ng	15	ng	ns	ns	ns	ns	42	12	0

*niet gemeten, geschatte waarden op basis van interlineaire interpolatie tussen 12.5 en 50%

3.4.3. Arthrobactertest

Testrapport in bijlage 3.

Tabel 19 vat de resultaten samen.

Tabel 19: % inhibitie van *Arthrobacter* metabolisme ((ns: niet significant verschillend van de controles; in het geel: overschrijding van de toxiciteitslimiet > 30% (zie tabel 4))(ng = niet getest)

	15C012	15C013	15C014	15D005	15D006	15D007	15E003	15E004	12E029	12E030
EC50 (%)	ng	7	45	>	>	>	>	>	>	>
Effect in 25%	ng	96	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns
Effect in 12.5 %	ng	82	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns

Arthrobacter blijkt weinig gevoelig aan de contaminatie in deze monsters.

3.5. CLASSIFICATIE

3.5.1. Samenvatting ecotoxiciteitstesten en classificatie

Tabel 20 geeft een overzicht van de effecten die gemeten werden met de biotesten in de hoogste testconcentraties. Op basis van deze tabel wordt duidelijk dat in elk van de monsters biologisch beschikbare ecotoxische stoffen voorkomen.

Tabel 20: overzicht van de effecten gemeten met de biotesten (effect in de hoogste testconcentratie)(in het geel: effect > 50%)

Effect > 50 % bij de hoogste concentratie	15C012	15C013	15C014	15D005	15D006	15D007	15E003	15E004	12E029	12E030
microtox	27	100	74	ns	22	15	100	100	ns	ns
daphnia	35	100	100	ns	70	45	100	100	100	20
algen	98	100	39	92	97	87	ns	ns	100	93
Microtox extract	ng	14	83	56	78	32	95	100	75	ns
compostworm	ng	100	ng	ns	70	ns	93	97	97	100
Planten (biomassa)	ng	100	ng	ns	ns	ns	42	100	52	45
Arthrobacter	ng	88	60	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns

De in vitro testen tonen aan dat in het monster 15E004 een verhoogde hoeveelheid hormoonverstorende stoffen voorkomen (oestradiol-achtige), en dat in de monsters 15D005/006/007, 15E003, 12E029 en 12E030 mutagene stoffen voorkomen.

Tabel 21 geeft een overzicht van de resultaten van de ecotoxiciteitstesten bij de verdunningen 4x en 8x.

Op basis van effecten in 25% (DIL 4 toetsing) worden 7 afvalstalen ingedeeld als ecotoxisch. Er zijn 2 extra stalen ingedeeld als ecotoxisch op basis van testen op de vaste fase, die niet ingedeeld waren op basis van het eluaat. Op basis van effecten in 12.5% (DIL 8 toetsing) worden 5 afvalstalen ingedeeld als ecotoxisch en zijn geen extra stalen ingedeeld als ecotoxisch op basis van testen op de vaste fase, die al niet ingedeeld waren op basis van het eluaat.

Tabel 21: Samenvatting ecotoxiciteitstesten. In het geel de indeling op basis van de limietwaarden volgens Pandard & Römcke (2013) bij 2 verdunningen (4x (boven) en 8x (onder)).

DIL 4 (% effect in 25 % eluaat of geq/l extract of vaste stof))	15C012	15C013	15C014	15D005	15D006	15D007	15E003	15E004	12E029	12E030
Microtox	ns	ns	43	ns	30	ns	89	94	ns	ns
Daphnia	ns	100	100	ns	ns	ns	38	100	ns	ns
Algen	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns
Microtox extract	ng	ns	53	ng**	64	ns	95	ng	ns	ns
Compostworm	ng	100	ng	ns	80	ns	100	100	ng**	ng**
Arthrobacter	ng	96	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns
Planten	ng	48*	ng	ns	ns	ns	ns	61*	25*	15*

Planten: * 25% test werd niet uitgevoerd, data zijn berekend via lineaire interpolatie; **niet getest maar duidelijk toxisch in 50% en => aangenomen dat zij ook in 25% nog toxisch zijn

DIL 8 (% effect in 12.5 % eluaat of geq/l extract of vaste stof))	15C012	15C013	15C014	15D005	15D006	15D007	15E003	15E004	12E029	12E030
Microtox	ns	ns	31	ns	23	ns	82	87	ns	ns
Daphnia	ns	100	100	ns	ns	ns	ns	100	ns	ns
Algen	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns
Microtox extract		ns	45	ng	55	ns	91	ng	ns	ns
Compostworm	ng	97	ng	ns	ns	ns	100	100	ns	60
Arthrobacter	ng	82	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns
Planten	ng	15	ng	ns	ns	ns	ns	42	ns	ns

3.5.2. HP14 classificatie op basis van de samenstelling (WFD).

Op EU niveau is intussen beslist om de rekenregels zoals voorgesteld in tabel 22 te gebruiken voor HP 14 beoordeling.

Tabel 22: Overzicht van de EU berekeningsmethode voor HP14

H zin	Ondergrens	Rekenregel	Limiet
H420	0.1%	Individuele stoffen	>0.1%
H400	0.1%	Som H400	≥25%
H410 H411/H412	0.1% 1%	Som H410*100+ som H411*10 + som H412	≥25%
H410 H411/H412/H413	0.1% 1%	Som H410 + som H411+ som H412 + som H413	≥25%

Enkele opmerkingen:

- chemische stoffen die H400 zijn ingedeeld zijn in principe ook H410 ingedeeld: het apart normeren van H400 is niet zinvol.
- indeling H412 en H413 komt niet vaak voor – door de hoge limietwaarde van 25% voor deze componenten leiden zij in geen enkele van de hier (en eerder) onderzochte gevallen tot classificatie. Het is wellicht niet zinvol om deze componenten mee te nemen.

Tabel 23: Beoordeling op basis van de samenstelling (ja= geklasseerd, neen: niet geklasseerd) volgens de EU berekeningsmethode.

Sample	EU
15C013	ja
15C014	ja
15D005	neen
15D006	neen
15D007	neen
15E003	ja
15E004	ja
12E029	ja
12E030	ja

3.5.3. HP14 classificatie: Biologisch en chemisch!

De biotesten op onverdunde eluaten en vaste stof reageren op elk van de onderzochte afvalmonsters (zie tabel 20). Alle monsters bevatten dus toxische stoffen, maar zij zijn niet allen geklasseerd op basis van de chemische gegevens. Inderdaad worden biologische effecten verwacht bij concentraties lager dan de chemische HP14 grenswaarden. H410 stoffen hebben immers per definitie LC₅₀ waarden ≤1 mg/l. De gemeten hoeveelheden aan H410 ingedeelde stoffen schommelden in de afvalmonsters tussen 0.023% of 230 mg/kg (15D006) en 5.13% of 51.3 g/kg (12E030). Uitloging tot 1 mg/l is zeker mogelijk voor elk van deze monsters. Het is dan ook niet verwonderlijk dat in de onverdunde monsters vrijwel overal toxiciteit wordt gemeten.

Om de biotestresultaten af te stemmen op de chemisch geaccepteerde HP14 limieten moeten daarom resultaten van biotesten op verdunde stalen worden gebruikt.

Tabel 24 vat de gegevens samen voor HP14 classificatie op basis van de chemische analyses, en op basis van de biologische beoordelingen (toetsing aan DIL 4 en 8).

Tabel 24: HP 14 classificatie op basis van chemie (EU normen) en toxicologische classificatie op basis van DIL4 en 8 toetsing (classificatie wanneer in 1 of meerdere testen de limiet wordt overschreden)(geel = geklasseerd).

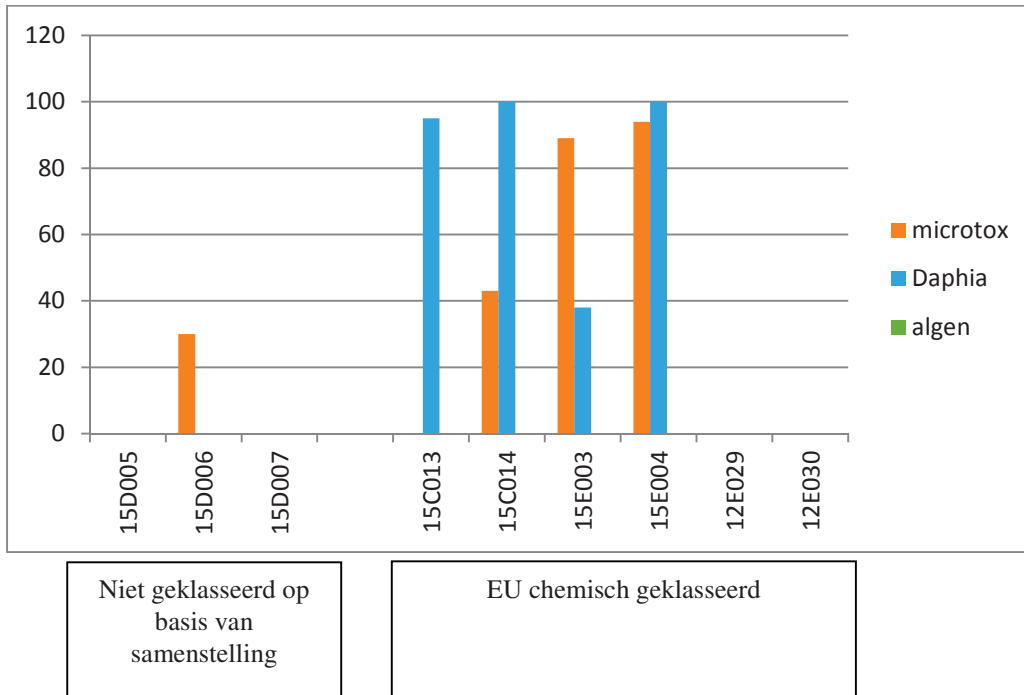
	15C012	15C013	15C014	15D005	15D006	15D007	15E003	15E004	12E029	12E030
HP14 op basis van samenstelling	?									
eluaat										
DIL4										
DIL8										
extract										
DIL4	?									
DIL8	?									
Vaste fractie										
DIL4	?		?							
DIL8	?		?							

Monsters die HP14 geklasseerd zijn op basis van hun samenstelling bevatten per definitie ecotoxische stoffen in aanzienlijke hoeveelheden (>0.1% H410 stoffen of > 1g/kg)), en de biotesten geven dit ook effectief aan (zie figuren 6 en 7: toetsing DIL 4, figuur 8: toetsing DIL 8).

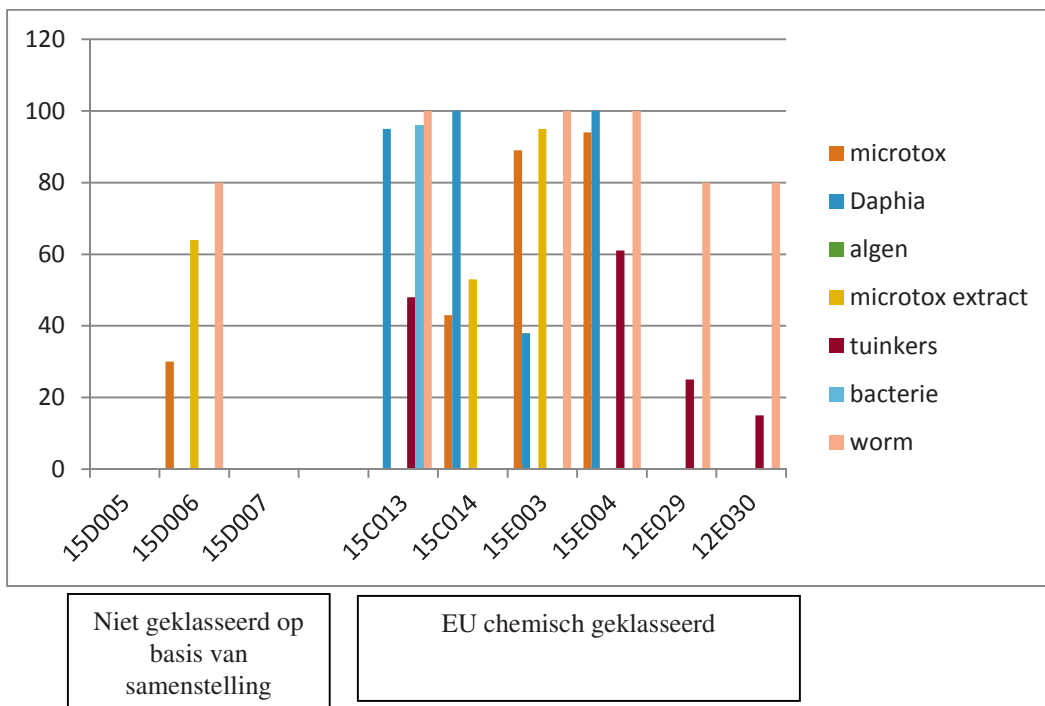
Wanneer alleen de testen op eluaat worden gebruikt is er geen volledige overeenkomst (geen toxiciteit voor monsters 12E029 en 12E030: figuur 6). Wanneer de resultaten van de hele testbatterij worden gebruikt, worden alle monsters die geklasseerd zijn op basis van de aanwezigheid van ecotoxische stoffen ook door de biotesten als toxisch "herkend" bij DIL4 .

Monster 15D006 is niet geklasseerd op basis van zijn samenstelling, maar er zijn wel biologische effecten gemeten in testen op eluaat, extract en vaste fase (tabel 24). Kennelijk zijn in dit monster biologisch beschikbare toxische componenten aanwezig die niet in de chemische beoordeling zijn opgenomen.

Figuur 6: % effect in de aquatische testen voor de verschillende monsters (DIL 4 toetsing)

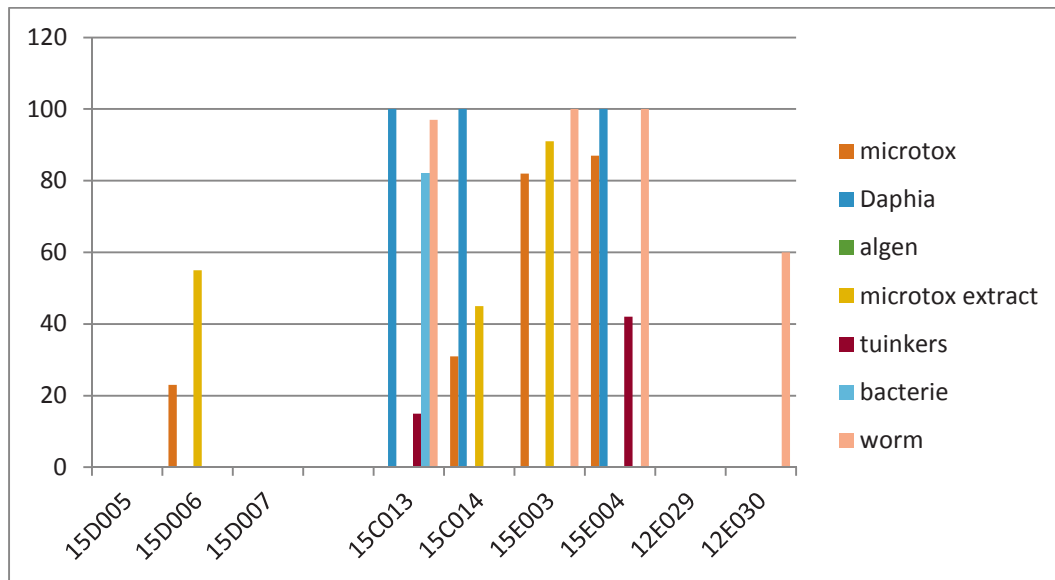


Figuur 7: % effect in de uitgevoerde biotesten op eluaat, extract en vaste fase voor de verschillende monsters (DIL 4 toetsing)



In figuur 8 worden de resultaten op basis van de DIL 8 toetsing weergegeven. Monster 12E029 wordt bij deze grotere verdunning niet meer als ecotoxisch herkend in de biotesten.

Figuur 8: % effect in de uitgevoerde biotesten op eluaat, extract en vaste fase voor de verschillende monsters (DIL 8 toetsing)



4. CONCLUSIES

De chemische screening van de monsters toont aan dat:

- De organische gegevens over individuele componenten onvoldoende zijn om TOC te verklaren; slechts een minimale fractie van het organisch materiaal kon worden geïdentificeerd. Een verhoogde inspanning is echter niet aangewezen omdat blijkt dat de informatie van individuele componenten weinig bruikbaar of zelfs irrelevant is voor de HP-beoordeling doordat de individuele concentraties te laag zijn om door te wegen in de berekening.
- De anorganische gegevens zijn relevant voor de HP14 evaluatie. De meeste metalen zijn HP410 ingedeeld en ze komen vaak aan concentraties voor die hoger liggen dan de cut off waarden. Het ontbreken van de speciatie is een belemmering, maar met het vastleggen van relevante modelstoffen voor de belangrijkste metalen kan wel de kwantitatieve aanwezigheid van anorganische ecotoxische stoffen objectief worden ingeschat.

Op basis van de chemische gegevens werden 6 van de 10 onderzochte monsters HP14 geklasseerd volgens de voorgestelde HP14 berekeningsmethode: deze monsters bevatten dus per definitie ecotoxische H410 stoffen in significante hoeveelheden.

De screening van de 10 monsters met de biotestbatterij toont aan dat *elk* van de onderzochte monsters toxische effecten veroorzaakt in één of meerdere testen. Dit is niet verwonderlijk: monsters worden pas chemisch geklasseerd vanaf 2.50 g ecotoxische componenten per kg afval, terwijl deze H410 stoffen per definitie een acute LC₅₀ waarde beneden 1 mg/l hebben. Bijgevolg treden biologische effecten reeds op bij veel lagere concentraties aan H410 stoffen.

Om de grenswaarden voor biotesten af te stemmen op die van de chemische limietwaarden moeten de biologische effecten daarom in verdunde stalen worden begrensd. Pandard & Römbke (2013) stellen een LID beoordelingskader (Lowest ineffective Dilution) voor waarbij afval als milieugevaarlijk wordt ingedeeld wanneer er bij 8x verdunning (DIL 8) nog significante effecten gemeten worden (in één of meerdere biotesten).

Wanneer deze normering wordt toegepast op de dataset in deze studie blijken 2 van de geklasseerde monsters niet toxisch. Wanneer als grenswaarde 4x verdunning (DIL 4) i.p.v. 8x wordt gehanteerd zijn elk van de 6 monsters die HP14 geklasseerd zijn, ook effectief toxisch in de biotesten.

Van de 3 afvalmonsters die niet HP14 geklasseerd zijn op basis van H410 componenten zijn er 2 die inderdaad geen biologische effecten veroorzaken bij DIL 4 of DIL 8. Het derde monster veroorzaakt echter wel significante biologische effecten bij DIL4 en DIL8 en dit in twee onafhankelijke testen: dit moet verklaard worden door de aanwezigheid van (uitloogbare en biobeschikbare) ecotoxische stoffen die in de chemische beoordeling niet opgepikt werden.

De goede herkenning door de biotesten van monsters die meetbare, ecotoxische, geïdentificeerde stoffen bevatten, verhoogt het vertrouwen dat biotesten ook kunnen worden ingezet om de aanwezigheid van ecotoxische stoffen aan te tonen in monsters die te complex zijn om enkel op chemische metingen te vertrouwen.

Op basis van de bevindingen wordt volgende stapsgewijze aanpak voorgesteld voor de HP14 beoordeling:

1. Anorganische screening: toetsen van de beschikbare meetgegevens aan de chemische HP14 criteria
2. Indien niet geïdentificeerd in stap 1: biotesten op eluaten en toetsen aan DIL4
3. Indien niet geïdentificeerd in stap 2: biotesten op de vaste stof en toetsen aan DIL4

Naast eluaten en vaste fracties werden in deze studie ook organische extracten van de monsters aangemaakt. Op deze extracten werd de microtoxtest uitgevoerd om de acute toxiciteit te meten van de (mix van) organische componenten, en werden de extracten met *in vitro* testen gescreend op de aanwezigheid van hormoonverstoorders (MVLN test) en mutagene stoffen (Ames II test). Op basis van de chemische metingen kon de toxiciteit van de organische fractie niet beoordeeld worden (zie hoger). In de organische fractie van 3 monsters werd met microtox een hoge acute toxiciteit gemeten bij DIL4 en DIL8. Elk van deze monsters werd reeds als acuut toxisch beoordeeld op basis van de overige biotesten op eluaten en vaste stof, zodat een afzonderlijke test op de organische fractie niet noodzakelijk lijkt.

In 1 extract van filterkoekmateriaal uit de tankcleaning-industrie, werd een licht signaal gemeten voor oestrogene activiteit (hormoonverstoorders). In 6 van de extracten werden metabolisch geactiveerde mutagene stoffen teruggevonden (3 bodemstalen met koolteer, één filterkoek uit de tankcleaning en 2 monsters van heropgegraven afvalmateriaal uit een voormalig stort). Hormoonverstoorders en mutagene stoffen zijn niet alleen relevant voor de beoordeling van mogelijke milieueffecten maar ook voor potentiële humane gezondheidseffecten (HP7 – kankerverwekkend, HP10 vergiftig voor de voortplanting). Deze stoffen zijn weinig biologisch beschikbaar, maar voor de intrinsieke beoordeling van afvalstoffen is hun aanwezigheid wel belangrijk.

6. SUMMARY

Previous studies illustrated that HP14 classification of complex waste materials based on available chemical data, is hampered due to:

- lack of analytical data, especially on organic compounds.
- unknown metal speciation.

Direct toxicity assessment of the waste material itself is a relevant alternative but criteria for classification based on biotest results need to be defined. To define realistic limit values for toxicity in line with the proposed chemical limit values at EU level, paired data are needed on the chemical composition and ecotoxicity test results for a set of waste materials. In the current project paired data were generated for 10 complex waste materials.

For the chemical characterization the next parameters were measured: TOC, dry matter, loss on ignition, metal concentration (in the waste and in the leachable fraction), elemental composition and C-H-N-S contents. The organic fraction was screened with GC-MS for identifiable volatile and semi-volatile compounds.

Results of the chemical screening showed:

- Analytical data on the organic compounds were very limited and only a very small fraction of TOC could be explained by GC-MS data. Moreover the data showed that concentrations of individual compounds were too low to be relevant for purposes of HP14 classification.
- Analytical data on the inorganic compounds were relevant: most metals are H410 labeled and their individual concentrations were often higher than the limit values. There is indeed lack of information on their speciation but defining relevant model compounds allowed to calculate quantitative data on the presence of inorganic ecotoxic compounds.

The criteria that are used at the EU level to classify waste as dangerous for the environment (HP14 classification) were applied to the chemical data. According to this method waste is HP14 classified when the amount of H410 labeled compounds exceeds 2,5 g/kg waste.

Based on these methods 6 out of the 10 waste samples were classified as HP14 (dangerous to the environment): these classified waste materials by definition carry a significant amount of ecotoxic compounds.

For evaluation of the ecotoxic properties of the wastes the eluate fractions were tested in 3 classic acute biotests (eluates L/S=10; biotests: microtox, algae and waterfleas), and also the solid fractions were tested in 3 acute tests (Arthrobacter test, compostworm (avoidance test), plants germination-and growth test). This battery of tests was proposed for waste classification by Pandard & Römcke (2013).

Screening of the 10 waste samples with this test battery showed that in all cases toxic responses were seen in at least one or more of the tests. As waste is HP14 classified when the amount of H410 labeled compounds exceeds 2.5 g/kg waste and H410 labeled substances are defined by their low acute LC₅₀ values (≤ 1 mg/l) biological effects are indeed expected at concentrations of H410 compounds much lower than HP14 limits, even when leachability and bioavailability are low.

To tune the limit values for the biotests in line with the chemical limit values the toxicity criteria therefore need to be defined for diluted samples. Pandard & Römcke (2013) proposed a framework based on the LID approach

(Lowest ineffective Dilution): waste is classified as dangerous to the environment when significant effects are seen (in one or more biotests) when testing 8 times diluted samples (DIL 8).

When this method was applied to the current data set 2 out of the 6 HP14 classified samples are not ecotoxic at DIL8. When the same framework is used at 4x dilution (DIL 4) all HP14 classified samples are also ecotoxic at that dilution.

2 out of 3 samples that were not HP14 classified also do not show biological effects at DIL 4 or DIL8. The 3rd one however is toxic in most of the biotests at DIL4 and DIL8: this is explained by the fact that (leachable and/or bioavailable) ecotoxic substances are present that were not included or recognized within the chemical analyses.

The good match between biotest responses and chemical classification in these samples confirms the reliability of biotests to recognize the presence of ecotoxic substances in highly complex samples where chemical characterization is not possible.

Based on these findings a tiered approach is proposed for HP14 classification of waste materials:

1. Inorganic screening (or specific organic analyses when relevant): results to be compared to the criteria (chemical) for HP14 ¹
2. When not classified in tier 1: biotests for the eluate fraction – results to be compared to DIL4 criteria
3. When not classified in tier 2: biotests for the solid fraction – results to be compared to DIL4 criteria

Waste is considered as not HP14 classified when not classified in tier 3.

Next to eluate and solid fractions also organic extracts were prepared in the current study and tested for their acute toxicity in the microtox test and *in vitro* tests were used to screen them for the presence of hormone disturbing compounds (oestrogenic action: MVLN test) and mutagenic substances (Ames II test). As shown before the chemical analytical data on the organics in the samples were not sufficient to classify the wastes. Nevertheless the organic fraction of 3 samples showed high acute toxicity in the microtox test at DIL4 and DIL8. All 3 were however also acute toxic in tests on eluate and/or solid fraction. Acute tests on the organic fraction separately therefore do not seem useful.

In 1 extract of filtercake (tank cleaning), a low signal for oestrogenic activity was measured. In 6 extracts metabolically activated mutagenic substances were found (3 soil samples contaminated with coal tar, 1 filtercake (tank cleaning) and 2 samples of landfill mining). Endocrine disruptors and mutagenic compounds are not only relevant for potential environmental effects but also for potential human health effects (HP7 – carcinogenic, HP10 – effects on reproduction). These substances are not readily bioavailable or leachable, but their presence is important for the evaluation of the intrinsic properties of waste materials.

¹ It is recommended to identify relevant model compounds (as a function of the type of waste).

7. SAMENVATTING

In eerdere studies werd vastgesteld dat de HP14 gevaarsbeoordeling (gevaar voor het leefmilieu) van complexe afvalstoffen op basis van chemische gegevens vaak niet eenvoudig is omwille van:

- onvoldoende gemeten parameters; vooral gegevens over organische contaminanten ontbreken vaak of zijn beperkt tot een aantal groepsparameters die niet relevant zijn voor gevaarsbeoordeling.
- de speciatie van metalen die niet gekend is en waardoor de ecotoxiciteit mogelijk hoger (*worst case*) wordt ingeschat dan ze in werkelijkheid is.

Beoordeling op basis van biotesten die direct op het afval zelf worden uitgevoerd, kan een alternatief zijn om de ecotoxiciteit van het materiaal objectief vast te stellen. Er is voor deze biotesten echter geen normeringskader beschikbaar. Gepaarde gegevens voor chemie en ecotexten zijn nodig om de grenswaarden voor effecten en concentratiegrenzen onderling af te kunnen stemmen. In dit project werden daarom voor 10 complexe afvalstoffen uitgebreide gepaarde gegevens gegenereerd.

Voor de chemische karakterisatie werden volgende parameters bepaald: TOC, droog stofgehalte, asrest, metalen (in afvalstof zelf en in uitloofractie), elementcompositie en C-H-N-S gehalten. De organische fractie werd gescreend via GC-MS (semi-vluchtige en vluchtige organische componenten).

De chemische screening van de monsters toont aan dat:

- De organische gegevens over individuele componenten onvoldoende zijn om TOC te verklaren; slechts een minimale fractie van het organisch materiaal kon worden geïdentificeerd. Een verhoogde inspanning is echter niet aangewezen omdat blijkt dat de informatie van individuele componenten weinig bruikbaar of zelfs irrelevant is voor de HP-beoordeling doordat de individuele concentraties te laag zijn om door te wegen in de berekening. Enkel wanneer op basis van de aard van het afval geweten is welke organische contaminanten aanwezig zijn is een gerichte analyse aangewezen.
- De anorganische gegevens zijn relevant voor de HP14 evaluatie. De meeste metalen zijn H410 ingedeeld en ze komen vaak aan concentraties voor die hoger liggen dan de limietwaarden. Het ontbreken van de speciatie is een belemmering, maar met het vastleggen van relevante modelstoffen voor de belangrijkste metalen kan wel de kwantitatieve aanwezigheid van anorganische ecotoxische stoffen objectief worden ingeschat.

De op EU niveau voorgestelde criteria om afvalstoffen al dan niet als milieugevaarlijk te classeren (HP14 classificatie) werden op de chemische gegevens toegepast. Het beoordelingskader klasseert afval als milieugevaarlijk vanaf 2.5 g H410 ingedeelde stoffen per kg afval.

Op basis van de chemische gegevens werden 6 van de 10 onderzochte monsters HP14 geklasseerd: deze bevatten dus per definitie ecotoxische H410 stoffen in significante hoeveelheden.

Voor de ecotoxiciteitsbeoordeling werden 3 klassieke acute biotesten uitgevoerd op de uitloofracties van de monsters (eluatens L/S=10; biotesten: microtox, algen en watervlooien), en 3 acute testen op de vaste fractie van het afval (Arthrobacter test, compostworm (avoidance test), planten kiem- en groeitest). Deze biotestbatterij werd voorgesteld voor de beoordeling van afval door Pandard & Römbke (2013).

De screening van de 10 monsters met deze biotestbatterij toont aan dat elk van de onderzochte monsters toxische effecten veroorzaakt in één of meerdere testen. Dit is niet verwonderlijk: monsters worden pas chemisch geklasseerd vanaf 2.5 g ecotoxische componenten per kg afval, terwijl deze H410 stoffen per definitie een acute LC₅₀ waarde beneden 1 mg/l hebben. Bijgevolg treden biologische effecten reeds bij veel lagere concentraties aan H410 stoffen op. Zelfs bij weinig uitloging en/of lage biobeschikbaarheid in het vaste afval van deze H410 stoffen zullen biologische effecten worden veroorzaakt. Om de grenswaarden voor biotesten af te stemmen op die van de chemische limietwaarden moeten de biologische effecten daarom in verdunde stalen worden begrensd. Pandard & Römbke (2013) stellen een LID beoordelingskader (Lowest ineffective Dilution) voor waarbij afval als milieugevaarlijk wordt ingedeeld wanneer er bij 8x verdunning (DIL 8) nog significante effecten gemeten worden (in één of meerdere biotesten).

Wanneer deze normering wordt toegepast op de dataset in deze studie blijken 2 van de geklasseerde monsters niet toxisch. Wanneer als grenswaarde 4x verdunning (DIL 4) i.p.v. 8x wordt gehanteerd zijn elk van de 6 monsters die HP14 geklasseerd zijn ook effectief toxisch in de biotesten.

Van de 3 afvalmonsters die niet HP14 geklasseerd zijn op basis van H410 componenten zijn er 2 die inderdaad geen biologische effecten veroorzaken bij DIL4 of DIL 8. Het derde monster veroorzaakt echter wel significante biologische effecten bij DIL4 en DIL8 en dit in twee onafhankelijke testen: dit moet verklaard worden door de aanwezigheid van (uitloogbare en biobeschikbare) ecotoxische stoffen die in de chemische beoordeling niet opgepikt werden.

De goede herkenning door de biotesten van monsters die aantoonbaar ecotoxische geïdentificeerde stoffen bevatten, verhoogt het vertrouwen dat biotesten kunnen worden ingezet om de aanwezigheid van ecotoxische stoffen ook aan te tonen in monsters die te complex zijn om enkel op chemische metingen te vertrouwen.

Op basis van de bevindingen wordt volgende stapsgewijze aanpak voorgesteld voor de HP14 beoordeling:

1. Anorganische screening (en eventueel gerichte organische analyses op basis van de aard van het afval): toetsen van de beschikbare meetgegevens aan de chemische HP14 criteria²
2. Indien niet geïdentificeerd in stap 1: biotesten op eluaten en toetsen aan DIL4
3. Indien niet geïdentificeerd in stap 2: biotesten op de vaste stof en toetsen aan DIL4

Afvalstoffen die niet in deze eerdere stappen werden geïdentificeerd worden als niet ecotoxisch beschouwd (geen HP14 classificatie).

Naast eluaten en vaste fracties werden in deze studie ook organische extracten van de monsters aangemaakt. Op deze extracten werd de microtoxtest uitgevoerd om de acute toxiciteit te meten van de (mix van) organische componenten, en werden de extracten met *in vitro* testen gescreend op de aanwezigheid van hormoonverstoorders (oestrogen activiteit; MVLN test) en mutagene stoffen (Ames II test). Op basis van de chemische metingen kon de toxiciteit van de organische fractie niet beoordeeld worden (zie hoger). In de organische fractie van 3 monsters werd met microtox een hoge acute toxiciteit gemeten bij DIL4 en DIL8. Elk van deze monsters werd reeds als acuut toxisch beoordeeld op basis van de overige biotesten op eluaten en vaste stof, zodat een afzonderlijke test op de organische fractie niet noodzakelijk lijkt.

² Bij voorkeur worden relevante modelstoffen vastgelegd voor de metalen. De relevantie moet in functie van de aard van de afvalstoffen beoordeeld worden.

In 1 extract van filterkoekmateriaal uit de tank cleaning industrie, werd een licht signaal gemeten voor oestrogene activiteit (hormoonverstoorders). In 6 van de extracten werden metabolisch geactiveerde mutagene stoffen teruggevonden (3 bodemstalen met koolteer, één filterkoek uit de tankcleaning industrie en 2 monsters van heropgegraven afvalmateriaal uit een voormalig stort). Hormoonverstoorders en mutagene stoffen zijn niet alleen relevant voor de beoordeling van mogelijke milieueffecten maar ook voor potentiële humane gezondheidseffecten (HP7 – kankerverwekkend, HP10 vergiftig voor de voortplanting). Deze stoffen zijn weinig biologisch beschikbaar, maar voor de intrinsieke beoordeling van afvalstoffen is hun aanwezigheid wel belangrijk.

8. BIBLIOGRAFIE

Ineris (2012). *Classification of industrial waste for hazard properties HP4, HP6, HP8, HP13 and HP14 criteria based on substance concentrations and impact assessment of options for HP14 on classification of various wastes, composts, sediments and soils*. N° INERIS-DRC-12-125740-03014A

OVAM (2013). *Impact van de nieuwe EURAL op het Vlaamse afvalbeleid* – auteurs: VITO

OVAM (2015). *Europese afvalstoffenlijst EURAL Handleiding* - auteurs: ARCADIS/VITO

Pandard & Römbke (2013). *Proposal for a “Harmonized” Strategy for the Assessment of the HP 14 Property*. Integrated Environmental Assessment and Management — Volume 9, Number 4—pp. 665–672.

Moser H. & Römbke J. (Eds.) (2009). *Ecotoxicological characterisation of waste: results and experience of an international ring test*. Springer.

Compendium voor de monsterneming, meting en analyse van water (WAC) (2015).
<http://emis.vito.be/nl/line-erkenningen-water>

Weltens R., Deprez K., Michiels L. (2014). *Validation of Microtox as a first screening tool for waste classification*. Waste Management 34 (2014) 2427–2433