

ENKELE ASPEKTE RAKENDE DIE BIO-BESKIKBAARHEID VAN CHEMIESE VERBINDINGS AFKOMSTIG VAN SUID-AFRIKAANSE VLIEGAS

André Basson

B.Med.Sci., B.Sc. Hons. (Bedryfsfisiologie)

Skripsie voorgelê vir gedeeltelike nakoming van die vereistes vir die graad
Magister Scientiae (Bedryfsfisiologie) in die Departement Fisiologie aan die
Potchefstroomse Universiteit vir Christelike Hoër Onderwys.

Leier: Dr. F. C. Eloff

Potchefstroom

1995

ABSTRACT

CERTAIN ASPECTS REGARDING THE BIOAVAILABILITY OF CHEMICAL COMPOUNDS DERIVED FROM SOUTH AFRICAN FLY ASH

The bioavailability of chemical compounds found on South African coal fly ash particles collected from Kendal, Lethabo and Matimba power stations was examined. Physiological sodium chloride solution, hydrochloric acid and simulated surfactant were used as leaching solutions to simulate human/fly ash interaction. The toxic potential of the leachates was evaluated by means of a lethality test (*Daphnia* test). The *Salmonella* Ames Spot test was used to detect mutagenic activity. The presence of metal compounds in the leachates was established by means of the Metal indicator test. Of the leaching solutions used hydrochloric acid was found to be the most efficient followed by physiological sodium chloride solution and simulated surfactant. Fly ash collected from Kendal power station had the highest toxic potential whilst the toxic potential of fly ash from Lethabo and Matimba power stations was more or less on a par. None of the leachates showed any mutagenic potential. The highest concentrations of metal compounds were recorded in respect of the Kendal leachates. The *in vitro* tests conducted in this study disclose certain tendencies. The results, however, cannot be directly applied to human beings. As the chemical compounds on fly ash can leach when coming into contact with body fluids and thus spread throughout the body, a long term biological monitoring programme based on the present study, can be embarked upon to establish whether the exposure to fly ash of personnel working in coal power stations, poses a health hazard to them.

ABSTRAK

ENKELE ASPEKTE RAKENDE DIE BIO-BESKIKBAARHEID VAN CHEMIESE VERBINDINGS AFKOMSTIG VAN SUID-AFRIKAANSE VLEGAS

Die bio-besikbaarheid van chemiese verbindings wat voorkom op Suid-Afrikaanse steenkoolvliegaspertikels versamel by die Kendal- Lethabo- en Matimbakragstasie, is ondersoek. Fisiologiese natriumchloriedoplossing, soutsuur en gesimuleerde surfaktant is gebruik as logingsvloei-stowwe om die mens/vliegaspertiksie na te boots. Die toksiese potensiaal van die verskillende logings is aan die hand van 'n letaliteitstoets (*Daphnia*toets) bepaal. Die *Salmonella* Ames Koltoets is gebruik om die mutageniese potensiaal van die verskillende logings te bepaal. Die teenwoordigheid van metale in die logings is deur middel van die Metaal-indikatortoets vasgestel. Van al die logingsvloei-stowwe gebruik, het soutsuur die doeltreffenste geblyk te wees gevolg deur fisiologiese natriumchloriedoplossing en gesimuleerde surfaktant. Kendalvliegaspertikels het die grootste toksiese potensiaal getoon terwyl die toksiese potensiaal van Lethabo- en Matimbavliegaspertikels ongeveer dieselfde was. Nie een van die logings het enige mutageniese potensiaal getoon nie. Daar is gevind dat die grootste konsentrasies metale in die Kendalvliegaspertikelslogings voorkom. Die *in vitro* toetse wat in hierdie studie uitgevoer, is lig tendense uit. Dit is egter nie moontlik om die resultate net so op die mens van toepassing te maak nie. Aangesien die chemiese verbindings wat op vliegaspertikels voorkom kan loog wanneer dit met liggaamvloei-stowwe in aanraking kom en dan sistemies kan versprei, kan daar aan die hand van die huidige ondersoek 'n langtermyn biologiese moniteringsprogram uitgevoer word om vas te stel of die vliegaspertikelsblootstelling van die personeel werkzaam in steenkoolkragstasies 'n gesondheidsgevaar vir hulle inhou.

BEDANKINGS

Ek, André Basson, wil graag dank betuig teenoor-

die Skepper, vir die fisiese en psigiese vermoëns om hierdie studie aan te pak en te voltooi;

die Stigting vir Navorsing Ontwikkeling vir hulle geldelike ondersteuning;

die Departement Ingenieurwese van ESKOM en mnr. C. Dreyer in besonder, vir die geleentheid om aan die projek deel te neem;

die bestuurders van die Kendal-, Lethabo- en die Matimbakragstasie vir die geleentheid om die studie uit te voer, en ook die personeel vir hulle samewerking in dié verband;

Prof. J.P. Willis van die Universiteit van Kaapstad se Departement Geologie vir die chemiese analyses uitgevoer op die vliegaspertikels;

me. M. Fourie en mnr. A.J. Viljoen van die Departement Algemene Chemie van die Suid Afrikaanse Buro van Standaard vir die kwartsanalises;

mnr. V. Hamilton-Attwell van NASCHEM vir die grootte-bepalings van die vliegaspertikels;

mnr. A. Bosman van die Sentrum vir Analitiese Tegnologie van die Skool vir Natuurwetenskappe van die Technikon van Pretoria wat die chemiese analyses gedoen het op die logingsvloeiwater;

me. J.L. Slabbert en personeel van WATERTEK, WNNR, vir die geleentheid om die Ames-, *Daphnia*- en Metaalindikatorproef uit te voer;

Prof. F. Steyn verbonde aan die Statistiese Konsultasie Dienste van die PU vir CHO vir die statistiese analises;

Endo Med BK vir die gebruik van rekenaarwatering;

die Stomatologiese Navorsingsentrum van die Departement Tandheelkunde van die Universiteit van Pretoria vir die gebruik van dié instansie se rekenaarwatering en gevorderde sageware;

mnr. J. Daffue vir sy tyd, kennis en rekenaarvaardigheid waarvan ek so vrylik gebruik kon maak;

Dr. F.C. Eloff en Prof. P.J. Pretorius verbonde aan die Departement Fisiologie van die PU vir CHO vir hulle leiding en ondersteuning;

Prof. P.J. Pretorius van die Departement Biochemie van die PU vir CHO vir sy insette tydens hierdie studie;

die departementshoof en personeel verbonde aan die Departement Fisiologie van die PU vir CHO vir die geleentheid om my studies aan dié Departement te voltooi;

my ouers, vir die taalversorging asook hulle finansiële ondersteuning;

my eggenote, vir haar ondersteuning en harde werk gedurende my studieloopbaan.

INHOUDSOPGAWE

ABSTRACT	i
ABSTRAK	ii
BEDANKINGS	iii
INHOUDSOPGAWE	v
Lys van Tabelle	x
Lys van Figure	xii

HOOFSTUK 1

Motivering en Doelstelling	1
-----------------------------------	----------

HOOFSTUK 2

Inleiding en Literatuuroorsig

2.1.	Inleiding	3
2.2.	Oorsprong van vliegas	3
2.3.	Samestelling van aspartikels	5
2.4.	Die mens/vliegasinteraksie	11
2.5.	Gesondheidsgevaar van sommige verbindings wat algemeen op vliegaspartikels voorkom	17
2.5.1.	Aluminium	19
2.5.2.	Fosfor	20
2.5.3.	Kalium	21
2.5.4.	Kalsium	21
2.5.5.	Lood	21
2.5.6.	Magnesium	22
2.5.7.	Mangaan	22
2.5.8.	Molibdeen	23

2.5.9.	Natrium	23
2.5.10.	Nikkel	24
2.5.11.	Sink	24
2.5.12.	Sirkonium en Yttrium	24
2.5.13.	Skandium	25
2.5.14.	Titaan	25
2.5.15.	Yster	25
2.6.	Ondersoeke na die effekte van vliegas	25
2.6.1.	Effekte waargeneem tydens proefdier- en bioëssaistudies	26
2.6.2.	Effekte by die mens waargeneem	28
2.7.	Biologiese opsporingsmetodes vir die bepaling van nadelige effekte van omgewingstowwe	28
2.7.1.	Karsinogeniteits-/Mutagenisiteitstoetse	29
2.7.1.1.	Amestoets	30
2.7.2.	Toksisiteitstoetse	31
2.8.	Loging van vliegaspartikels in liggaamsvloeistowwe	33
2.8.1.	Surfaktant	35
2.8.2.	Fisiologiese natriumchloriedoplossing	36
2.8.3.	Soutsuur	36
2.8.4.	Lisosomale ensieme	36

HOOFSTUK 3

Metodes

3.1.	Verkryging van vliegaspertikels	38
3.2.	Fraksionering van vliegasp	38
3.3.	Fisiese eienskappe	39
3.3.1.	Partikeldeursnee	39
3.3.2.	Kwartsinhoud	39
3.3.3.	Chemiese samestelling	39
3.4.	Loging van vliegasp	39
3.4.1.	Gesimuleerde liggaamsvloeistowwe gebruik as logingsvloeistof	40
3.4.1.1.	Fisiologiese natriumchloriedoplossing	40
3.4.1.2.	Soutsuur	40
3.4.1.3.	Gesimuleerde surfaktant	40
3.4.2.	Logingsmetode	41
3.5.	Analise van die supernatant	42
3.5.1.	Chemiese analise	42
3.5.2.	Biologiese analise	42
3.5.2.1.	Toksiese potensiaal	42
3.5.2.2.	Mutageniese potensiaal	44
3.5.2.2.1.	Minimale agarplate	44
3.5.2.2.2.	Topagarmengsel	45
3.5.2.2.3	S9	46
3.5.2.2.4.	Induksiemetode	47
3.5.2.2.5.	Kontrole	48
3.5.2.2.5.1.	Steriliteitskontrole	48
3.5.2.2.5.2.	Positiewe kontrole	48

3.5.2.3.	Metaalteenwoordigheid	49
3.6.	Statistiese verwerkings	50
3.6.1.	<i>Daphniatoets</i>	50
3.6.2.	Metaalindikatorertoets	50

HOOFSTUK 4

Resultate

4.1.	Vliegasmorfologie	52
4.1.1.	Vliegaspartikeldeursnee	52
4.1.2.	Kwartsinhoud	52
4.1.3.	Chemiese samestelling	53
4.2.	Loging	55
4.2.1.	Chemiese samestelling van die supernatant	55
4.2.2.	<i>Daphniatoets</i>	57
4.2.2.1.	Siftingstoets	57
4.2.2.2.	Definiteitstoets	58
4.2.3.	Amestoets	62
4.2.4.	Metaalindikatorertoets	63

HOOFSTUK 5

Bespreking

5.1.	Vliegasmorfologie	65
5.1.1.	Vliegaspartikeldeursnee	65
5.1.2.	Kwartsinhoud	65
5.1.3.	Chemiese samestelling	66
5.2.	Loging	67

5.2.1.	<i>Daphniatoets</i>	70
5.2.2.	Amestoets	73
5.2.3.	Metaalindikatortoets	74
5.2.4.	Algemeen	75

HOOFTUK 6

Opsomming	77
------------------	----

HOOFTUK 7

Bibliografie	80
---------------------	----

Lys van Tabele

Tabel 2.1.	Samestelling van as afkomstig van steenkool verkry van steenkoolvelde wat die genoemde kragstasies van steenkool voorsien.	11
Tabel 2.2.	Oksied- en spoorelementsamstelling van vliegassamstel by Lethabokragstasie.	12
Tabel 2.3.	Vergelyking tussen die <i>Daphnia</i> -toets, die Soogdierekolonievormingstoets en die Metaalindikatortoets in terme van gevoeligheid.	33
Tabel 2.4.	Komposisie van longsurfaktant en gesimuleerde surfaktant.	35
Tabel 4.1.	Partikeldeursnee van die vliegassamstels geëvalueer.	52
Tabel 4.2.	Kwartinhoud van die vliegassamstels geëvalueer.	53
Tabel 4.3.	Oksiedsamstelling, uitgedruk as persentasie van die totale samestelling, van die vliegassamstels geëvalueer.	53
Tabel 4.4.	Spoorelemente aangetoon in d.p.m. van die vliegassamstels geëvalueer.	54
Tabel 4.5.	Chemiese samestelling in d.p.m. van fisiologiese natriumchloriedoplossing.	56
Tabel 4.6.	Chemiese samestelling in d.p.m. van soutsuur.	56
Tabel 4.7.	Chemiese samestelling in d.p.m. van gesimuleerde surfaktantoplossing.	57
Tabel 4.8.	Letaliteit tydens die siftingstoets vir fisiologiese natriumchloriedoplossing.	57
Tabel 4.9.	Letaliteit tydens die siftingstoets vir soutsuur.	58
Tabel 4.10.	Letaliteit tydens die siftingstoets vir gesimuleerde surfaktant.	58
Tabel 4.11.	Letaliteit tydens die definiteitstoets vir fisiologiese natriumchloriedoplossing.	59

Tabel 4.12.	Letaliteit tydens die definiteitstoets vir soutsuur.	59
Tabel 4.13.	Letaliteit tydens die definiteitstoets vir gesimuleerde surfaktant.	59
Tabel 4.14.	Resultate van die Metaalindikatortoets op die onverdunde ($[^1/1]$) logingsvloei- stowwe.	63

Lys van Figure

Figuur 2.1.	Oorsprong van die vliegaspertikels.	4
Figuur 2.2.	Deursnit van 'n soliede vliegaspertikel.	6
Figuur 2.3.	Deursnit van 'n cenosfeer.	6
Figuur 2.4.	Periodieke tabel	9
Figuur 2.5.	Anatomie van die menslike asemhalingstelsel.	13
Figuur 2.6.	Skematiese voorstelling van die mens/vliegaspertaksie.	14
Figuur 2.7.	Die liggaam se reaksie op 'n vliegaspertikel wat die gaswisselingsarea van die longe bereik.	17
Figuur 2.8.	Organogram ter illustrasie van die toetse wat gebruik kan word om die mutageniese potensiaal van 'n verbinding te bepaal.	29
Figuur 4.1.	Resultate (Tabel 4.8 en 4.11) van die <i>Daphnia</i> toets uitgevoer met fisiologiese natriumchloriedoplossing.	60
Figuur 4.2.	Resultate (Tabel 4.9 en 4.12) van die <i>Daphnia</i> toets uitgevoer met soutsuur.	61
Figuur 4.3.	Resultate (Tabel 4.10 en 4.13) van die <i>Daphnia</i> toets uitgevoer met gesimuleerde surfaktant.	62
Figuur 4.4.	Persentasie inhibisie bewerkstellig deur die verskillende logingsvloei-stowwe in die verskillende vliegaspertaksies.	64

HOOFTSTUK 1

MOTIVERING en DOELSTELLING

Die vraag na elektrisiteit neem daaglik toe. Suid-Afrika maak grootliks staat op steenkoolkragstasies om aan hierdie vraag te voldoen. Dit het tot gevolg dat al hoe groter hoeveelhede vliegasspartikels geproduseer word.

Die samestelling van vliegass word bepaal deur die mineralogie, die kwaliteit van steenkool wat verbrand word, die temperatuur waarteen die steenkool verbrand word asook die stollingstempo. Die bepalende faktore is eie aan elke kragstasie en gevolglik verskil die samestelling van die verskillende kragstasies se vliegasspartikels van mekaar.

Personeel verbonde aan Suid-Afrikaanse steenkoolkragstasies kom gedurende hulle normale dagtaak in aanraking met vliegass maar die gesondheidsgevaar wat vliegasspartikels vir hulle mag inhou is nog nie bepaal nie. Dit is egter bekend dat die ingeasemde partikels 'n geruime tyd vertoef in die menslike asemhalingstelsel voordat dit verwyder word. Die moontlikheid bestaan dus dat gedurende dié tydperk 'n vliegasspartikel se oppervlaksgeassosieerde metaal- en ander chemiese verbindings logging kan ondergaan, sistemies versprei en 'n toksiese of 'n mutageniese effek kan veroorsaak.

Die doel van hierdie loodsstudie is dus om die vraag of die oppervlaksgeassosieerde metale en ander chemiese verbindings op vliegasspartikels afkomstig van Suid-Afrikaanse steenkoolkragstasies, *bio-beskikbaar gestel word na interaksie met die mens, na te vors.

Met die oog hierop is die chemiese komposisie van die vliegasspartikel bepaal. Verder is die logingspotensiaal van

* Bio-beskikbaar = in die liggaam beskikbaar

die verskillende gesimuleerde liggaamsvloeistowwe bereken deur te kyk na die tipe asook kwantiteit van 'n verbinding wat geloog word vanaf die vliegaspertikel. Deur gebruik te maak van 'n aantal *in vitro* studietegnieke is die moontlikheid ook ondersoek of die bio-beskikbare verbindings moontlik 'n toksiese- en/of mutageniese potensiaal mag hê.

HOOFSTUK 2

INLEIDING en LITERATUUROORSIG

2.1. Inleiding

Groot hoeveelhede vliegaspertikels word as neweproduk gevorm tydens die verbranding van steenkool vir die opwekking van elektrisiteit.

Metaal- en ander chemiese verbindings kom op die vliegaspertikels voor wat toksiese of mutageniese eienskappe mag hê.

Persone werksaam in kragstasies word gedurende hul dagtaak blootgestel aan vliegass. Wanneer vliegasspartikels ingeasem of ingesluk word, kan die metaal- en ander chemiese verbindings wat daarop voorkom, vrygestel word in liggaamsvloeistowwe.

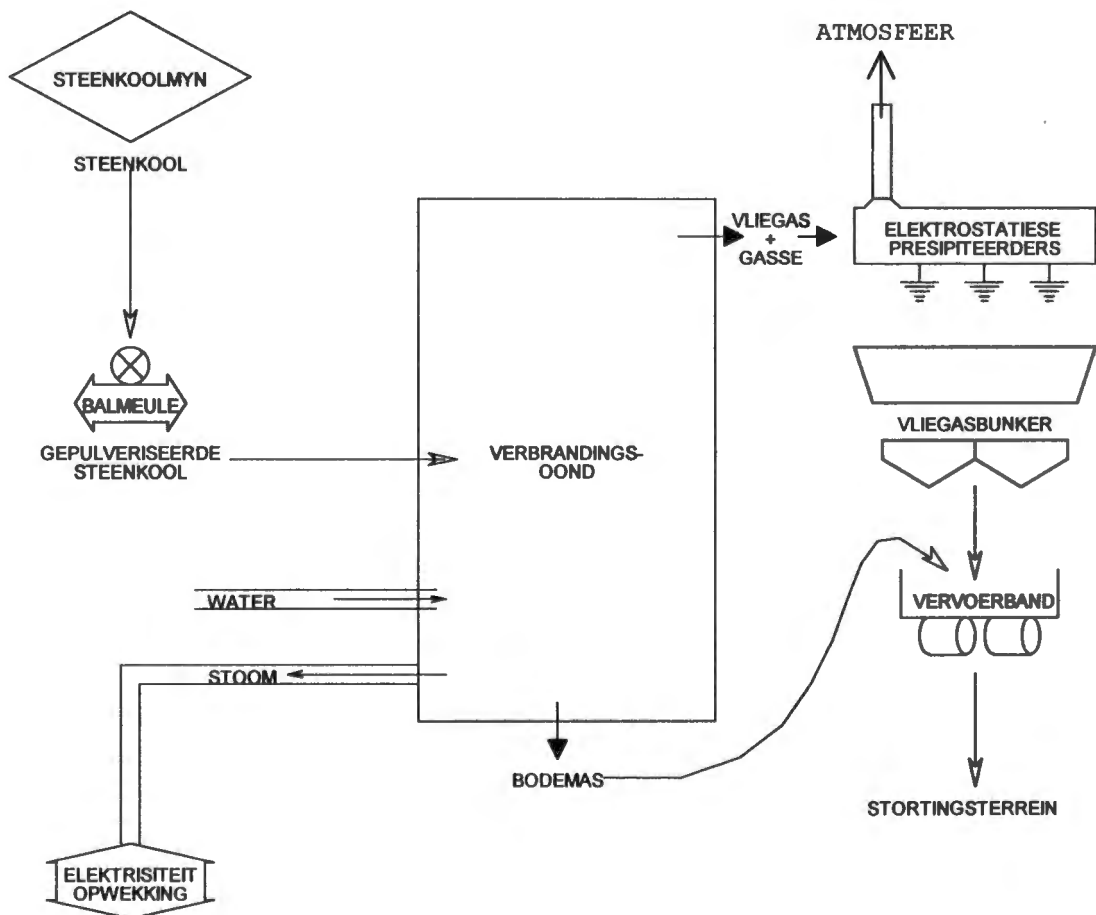
Dit is dus noodsaaklik dat daar gepoeg word om vas te stel of die metaal- en ander chemiese verbindings wat in of op die vliegasspartikels voorkom, moontlik 'n gesondheidsgevaar vir die personeel van 'n steenkoolkragstasie inhou.

2.2. Oorsprong van vliegass

Voordat steenkool verbrand word, word dit fyn gemaal (gepulveriseer) met behulp van meganiese balmeulens (Figuur 2.1).

Die gepulveriseerde steenkool word in verbrandingsoonde verbrand en die hitte gegenereer verhit water in pype in die wande van die verbrandingsoonde en vorm stoom. Die stoom word deur die oond gesirkuleer om superverhitte stoom te vorm voordat dit na die turbinekamer vloei waar dit turbines aandryf wat elektrisiteit opwek.

Aspartikels en rookgas (flue gas) ontstaan as neweprodukte tydens die verbrandingsproses. Die neweprodukte word met behulp van uitsuigsisteme uit die verbrandingsoond verwyder. Aspartikels wat in die rookgas gesuspendeer is, staan bekend as vliegias. Die aspartikels wat te groot is om gesuspendeer te word, val na die onderpunt van die verbrandingsoond en heet bodemas. Die bodemas word meganies uit die verbrandingsoond verwyder.



Figuur 2.1. Oorsprong van die vliegiaspartikels.

Die rookgas wat uit die verbrandingsoond gesuig word, vloei deur 'n elektrostatische presipiteerder; die vliegiaspartikels presipiteer op die gepolariseerde plate van die presipiteerder. Die grootste partikels

presipiteer eerste terwyl die kleiner partikels langer in die rookgas gesuspendeer bly (Bosch & Willis, 1990).

Ongeveer 0,5% van die totale hoeveelheid vliegasparkel wat gevorm word, word nie gepresipiteer nie en word saam met die rookgas in die atmosfeer vrygestel (Raask, 1980).

Die vliegasparkel wat versamel op die presipitator-plate word meganies verwyder en vervoer na vliegasparkel waar dit tydelik geberg word. Die vliegasparkel word bevogtig wanneer die parkel leeggemaak word. As uit die vliegasparkel, asook die bodemas vanuit die verbrandingsoonde, word met 'n vervoerbandsisteem na 'n uitgewerkte gedeelte van die steenkoolmyn vervoer waar dit benut word as vullingsmateriaal. Dit is in hierdie vervoerproses dat van die aspartikels in die atmosfeer gesuspendeer word en in kontak kom met werkers wat in die kragstasie werk.

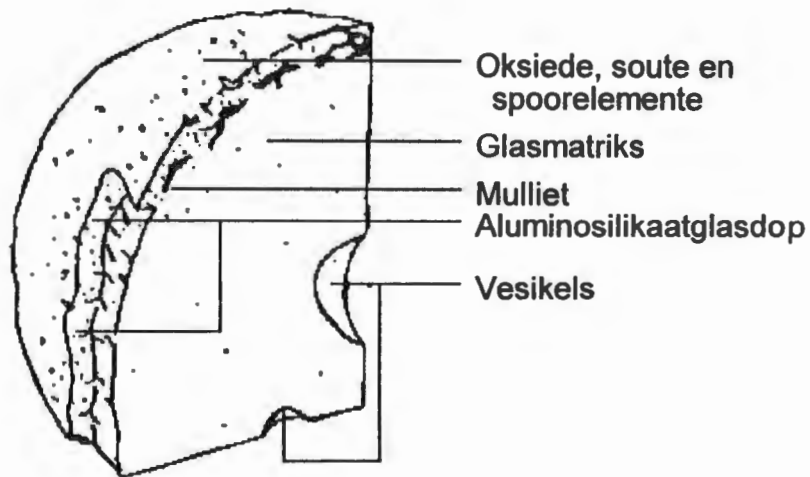
2.3. Samestelling van aspartikels

Volgens Lesch & Cornell (1987) is vliegasparkel aluminosilikaatglassfere met 'n deursnee wat wissel tussen 2 en 80 μm . Die morfologie van hierdie sfere kan onderling van mekaar verskil. Nege en negentig persent van die sfere is soliede.

'n Soliede vliegasparkel (Figuur 2.2) bestaan uit 'n glasmatriks wat omring is deur 'n buitenste aluminosilikaatglasdop waarin anorganiese materiaal ingebed is (Dudas & Warren, 1987). 'n Klein hoeveelheid mullet mag voorkom tussen die glasmatriks en die buitenste dop. Vesikels (holtes of openinge) kan voorkom regdeur die soliede partikel.

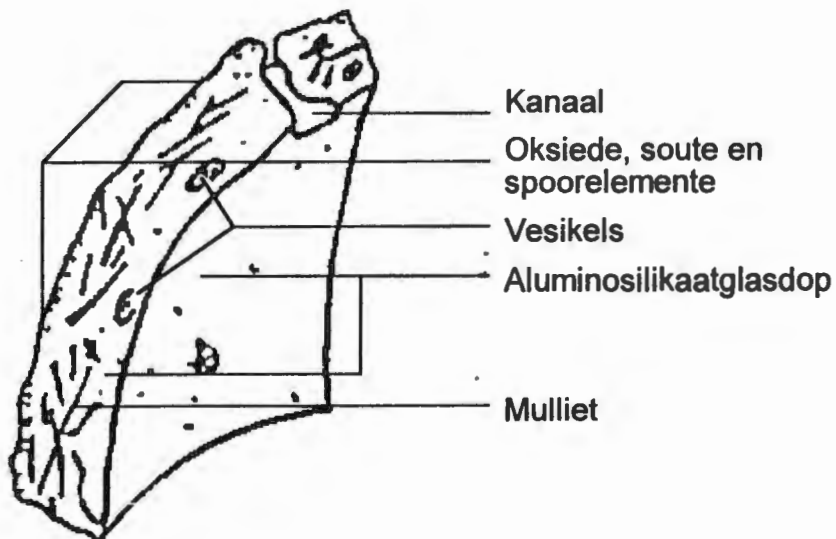
Volgens R. Kruger, soos aangehaal deur Bosch & Willis (1990), is die res van die partikels (1%)

cenosfere (hol sfere) of splenosfere (sfere wat hol in die middel is en gevul is met kleiner sfere).



Figuur 2.2. Deursnit van 'n soliede vliegaspartikel.

'n Cenosfeer (Figuur 2.3) of 'n splenosfeer bestaan uit 'n mulliet-aluminosilikaatglasmengsel en anorganiese soute wat daarop ingebed is (Dudas & Warren, 1987).

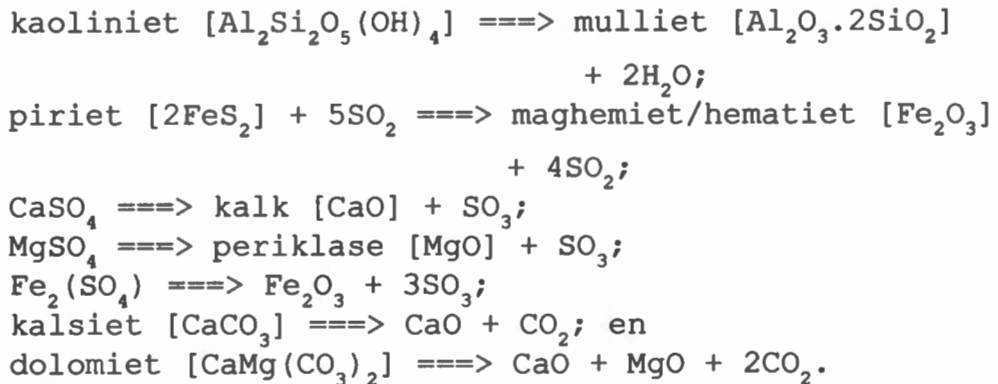


Figuur 2.3. Deursnit van 'n cenosfeer.

Tussen die vliegaspertikels en die bodemas kom daar ook 'n klein hoeveelheid onverbrande steenkool voor (Bosch & Willis, 1990).

Aspartikels word hoofsaaklik gevorm uit die anorganiese elemente aangetref in steenkool (Bosch & Willis, 1990). Die meerderheid van die elemente wat in steenkool voorkom word vrygestel as rookgas in die vorm van anorganiese oksiede na verbranding (Haynes et al., 1982 en Smith, 1980). Hierdie anorganiese komponente akkumuleer op die vliegaspertikel se oppervlakte of word geïnkorporeer in die buitenste reaktiewe glasdoop gedurende die stollingsproses van die gesmelte glasmengsel (Figure 2.2 en 2.3).

Die ruimtelike rangskikking en samestelling van die anorganiese komponente kan egter verander tydens die verbrandingsproses wat aanleiding kan gee tot nuwe verbindings bv.



Die samestelling van die nuutgevormde verbindings word bepaal deur die temperatuur waarteen die verbrandingsoende funksioneer (Cornell, 1984), die mineralogie en kwaliteit van die steenkool (Srivastava et al., 1986), en die tempo waarteen die stollingsproses plaasvind.

Daar bestaan 'n omgekeerde eweredigheid tussen die grootte van 'n partikel en die konsentrasie van oksiede, soute en spoorelemente wat daarop voorkom, met ander

woorde hoe kleiner die aspartikel hoe groter is die konsentrasie anorganiese komponente wat daarop voorkom (Bosch & Willis, 1990).

Spoorelemente word in die geologiese konteks gedefinieer as daardie elemente wat in die aardkors aangetref word in 'n konsentrasie van 1 000 deeltjies per miljoen (d.p.m.) of minder (Dallas & Day, 1993).

Benewens bogenoemde komponente kom daar ook metale en swaarmetale in of op die aspartikel voor. 'n Metaal is 'n element wat 'n goeie geleier van elektrisiteit is met 'n elektriese weerstand wat direk eweredig is aan sy absolute temperatuur. Die term swaarmetaal word gereserveer vir daardie metale wat 'n relatiewe atoommassa groter as dié van kalsium het (Figuur 2.4) met die uitsondering van aluminium, berillium, kalium, litium, natrium en magnesium wat 'n hoër atoommassa as die van kalsium het maar nie as swaarmetale geklassifiseer word nie (Dallas & Day, 1993).

Volgens Dudas & Warren (1987) word elemente soos arseen, boor, chroom, kalsium, magnesium en stronsium hoofsaaklik aangetref op die buitenste glasop terwyl aluminium, kalium, lood en silika eweredig versprei is regdeur die vliegasparkikel.

Coles et al. (1979) en Furuya et al. (1987) deel die elemente wat in of op die vliegasparkikel voorkom in drie groepe:

Groep I bestaan uit die volgende twee- en -twintig elemente: aluminium, disprosium, europium, hafnium, kalium, kalsium, lantaan, magnesium, mangaan, natrium, neodimium, rubidium, samarium, serium, sesium, skandium, tantaal, terbium, titaan, torium, yster en ytterbium.

Mason (1966) beskou die Groep I-elemente as litofilies (lief vir steen). Litofiliese elemente word geassosieer met aluminosilikate en ons vind dus dat hierdie elemente versprei is regdeur die buitenste reaktiewe alumino-silikaatglasdop van die vliegaspertikel (Fisher et al., 1976).

PERIODE	1	2	3	4	5	6	7		
IA	1 WATERSTOF H	3 LITHIUM Li	11 NATRIUM Na	19 KALIUM K	37 RUBIDIUM Rb	55 SESUM Cs	87 FRANKIUM Fr		
								LANTANIEDREKKE	AKTINIEDREKKE
IIA		4 BERILLIUM Be	12 MAGNESIUM Mg	20 KALKIUM Ca	38 STRONSIUM Sr	56 BARIUM Ba	88 RADIUM Ra		
				IIIB	21 SKANDIUM Sc	39 YTRIUM Y	57 LANTANUM La	89 AKTIJN Ac	
				IVB	22 TITANIUM Ti	40 ZIRKONIUM Zr	72 HAFNIUM Hf	104 KURCHATOVIIUM Ku	
				VB	23 VANADIUM V	41 NIOBNIUM Nb	73 TANTALUM Ta	105 HANNIBELIUM Ha	
				VIB	24 CHROMIUM Cr	42 MOLYBDENUM Mo	74 WOLFRAM W	106	
				VIBB	25 MANGANESE Mn	43 TECHNETIUM Tc	75 RENIUM Re	107	
					26 YSIER Fe	44 RUTENIUM Ru	76 OSMIUM Os		
				VIII	27 KOBALT Co	45 RHODIUM Rh	77 IRIDIUM Ir		
					28 NIKKEL Ni	46 PALLADIUM Pd	78 PLATINUM Pt		
				IB	29 KOPPER Cu	47 SILWER Ag	79 GOLD Au		
				IIB	30 ZINK Zn	48 KADMIUM Cd	80 KWIK Hg		
				IIIA	5 BOOR B	13 ALUMINIUM Al	31 GALLIUM Ga	49 INDIUM In	81 THALLIUM Tl
				IVA	6 KARBON C	14 SILIKON Si	32 GERMANIUM Ge	50 TIN Sn	82 LEID Pb
				VA	7 STIKSTOF N	15 FOSFOR P	33 ARSEEN As	51 ANTIMOON Sb	83 BISMUT Bi
				VIA	8 SUURSTOF O	16 SWAEL S	34 SELEEN Se	52 TELLUUR Te	84 POOLONIUM Po
				VIIA	9 FLUOR F	17 CHLOOR Cl	35 BROM Br	53 JODIUM I	85 ASTAAT At
EDEL- GASSE	2 HELIUM He	10 NEON Ne	18 ARGON Ar	36 KRIPTON Kr	54 XENON Xe	86 RADON Rn			
								6 SERIUM Ce	90 THORIUM Th
								59 PRASEODIMIUM Pr	91 PROTAKTIJN Pa
								60 NEODIMIUM Nd	92 URANIUM U
								61 PROMETIUM Pm	93 NEPTUNIUM Np
								62 SAMARIUM Sm	94 PLUTONIUM Pu
								63 EUROPIUM Eu	95 AMERIUM Am
								64 GADOLINIUM Gd	96 CURIUM Cm
								65 TERBIUM Tb	97 BERKELEIUM Bk
								66 DYSPROSIUM Dy	98 KALIFORNIUM Cf
								67 HOLMIUM Ho	99 EINSTEINIUM Es
								68 ERBIUM Er	100 FERMIUM Fm
								69 TULIUM Tm	101 MEINDELEVIUM Md
								70 YTERBIUM Yb	102 NOBELIUM No
								71 LUTETIUM Lu	103 LAWRENSIUM Lr

Figuur 2.4. Periodieke tabel (Meyer, 1988b).

Groep II bestaan uit die volgende nege elemente:

arseen, gallium, kadmium, koper, lood, molibdeen,
seleen, sink en wolfram.

Mason (1966) beskou hierdie elemente as koperfilies (lief vir koper). Hierdie elemente word geassosieer met swael-bevattende verbindings. Die Groep II-elemente kondenseer op die vliegasparkels wanneer die rookgasstroom begin afkoel. Die gevolg van hierdie kondensasieproses is dat die grootste konsentrasie van die elemente aangetref word op die kleiner partikels omdat die klein partikels langer in die rookgasstroom gesuspendeer bly voordat dit presipiteer teen die gepolariseerde elektrostatiese presipitatorplate. Hierdie groep elemente toon dus 'n verryking van elemente wat omgekeerd eweredig is aan die partikelgrootte (Natusch et al., 1974).

Groep III bestaan uit die volgende nege elemente:

barium, berillium, chroom, kalsium, kobalt, nikkel,
stronsium, uraan en vanadium.

Die elemente van groep III vertoon wel verryking maar daar bestaan nie 'n duidelike verwantskap tussen verryking en partikelgrootte nie (Natusch et al., 1974).

Soos reeds vermeld, word die samestelling van vliegas bepaal deur die chemiese komposisie (mineralogie) en die kwaliteit van steenkool wat verbrand word, die temperatuur waarteen verbranding plaasvind asook die stollingstempo. Dit het tot gevolg dat die samestelling van vliegas geproduseer deur verskillende kragstasies van mekaar verskil omdat hierdie faktore eie is aan elke kragstasie.

Boshoff et al. (1991) het steenkool afkomstig van verskillende steenkoolvelde onder laboratoriumtoestande

verbrand. Die chemiese samestelling van die as wat gevorm het word gegee in Tabel 2.1.

Kragstasie	Steenkoolmyn	Steenkoolveld	% As gevorm	Kwartsinhoud van as
Kendal	Khutala	Springs - Witbank	32,4%	14,7%
Lethabo	New Vaal	Vereeniging - Sasolburg	40,8%	14,7%
Matimba	Grootgeluk	Waterberg	32,9%	32,0%

Kragstasie	Oksiedinhoud uitgedruk as persentasie van as								
	Al ₂ O ₃	CaO	Fe ₂ O ₃	K ₂ O	MgO	Na ₂ O	P ₂ O ₅	SiO ₂	TiO ₂
Kendal	31,4	3,03	7,40	0,73	0,54	0,31	0,22	53,2	2,0
Lethabo	30,1	3,25	4,30	0,27	0,79	0,34	0,36	55,8	1,5
Matimba	21,4	3,09	7,84	0,61	0,57	0,13	0,19	65,1	0,8

Tabel 2.1. Samestelling van as afkomstig van steenkool verkry van steenkoolvelde wat die genoemde kragstasies van steenkool voorsien (Boshoff et al. 1991).

Die chemiese samestelling van Lethabovliegias verkry uit die elektrostatiese presipiteerders is bepaal deur Bosch & Willis (1990). Hulle vind dat die partikels 'n kwartsinhoud van 2,0% gehad het en dat die gemiddelde partikeldeursnee 8 µm was. Die resultate van hierdie studie word in Tabel 2.2 gegee.

2.4. Die mens/vliegiasinteraksie

Die interaksie tussen die mens en die vliegiaspartikel word grootliks beperk tot direkte kontak (vel en oë), inhalasie (asemhalingstelsel) en ingestie (spysverteringstelsel). Die asemhalingstelsel speel die grootste rol in hierdie interaksie.

Luggedraagde partikels kan verdeel word in 'n inasembare en 'n nie-inasembare partikelfraksie. Die inasembare fraksie is daardie partikels wat deur die neus en mond ingeasem word en dus die potensiaal het om die longe te

bereik. Die deursnee van die inasembare fraksie wissel tussen 0 en 50 μm .

Oksiedinhoud uitgedruk as persentasie van as								
Al_2O_3	CaO	Fe_2O_3	K_2O	MgO	Na_2O	P_2O_5	SiO_2	TiO_2
38,1	4,56	2,98	0,56	1,47	0,43	0,73	48,6	1,91

Spoorelementkonsentrasie in dele per miljoen	
Arseen	26
Barium	1 437
Bismut	18
Broom	< 1,1
Chroom	269
Gallium	110
Germanium	6
Kobalt	34
Koper	96
Lantaan	139
Lood	185
Mangaan	518
Molibdeen	7
Neodimium	124

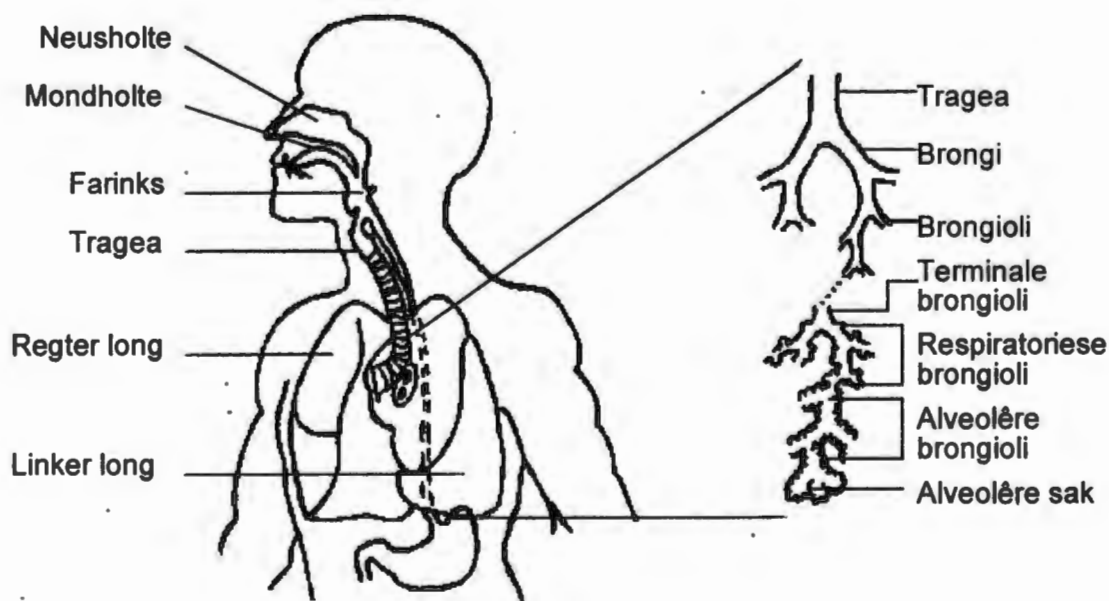
Spoorelementkonsentrasie in dele per miljoen	
Nikkel	128
Niobium	57
Rubidium	38
Seleen	7
Serium	275
Sink	235
Sirkonium	566
Skandium	54
Stronsium	1 185
Torium	63
Uraan	14
Vanadium	241
Wolfram	15
Yttrium	112

Tabel 2.2. Oksied- en spoorelementsamesstelling van vliegvas versamel by Lethabokragstasie (Bosch & Willis, 1990).

Die inasembare fraksie kan onderverdeel word in 'n nasofarangeale fraksie (15 - 50 μm), 'n brongitrageale fraksie (7 - 15 μm) en 'n alveolêre of respireerbare fraksie (0,5 - 7 μm). Die respireerbare fraksie word gedefinieer as daardie gedeelte van die inasembare fraksie wat verby die liggaam se natuurlike verdedigingsmeganismes kan beweeg en die gaswisselings-area van die longe kan bereik (Barwise, 1989; Schröder, 1989). Die American Conference of Governmental Industrial Hygienists (ACGIH, 1990) beskou 'n partikel kleiner as 10 μm as respireerbaar.

Die menslike asemhalingstelsel (Figuur 2.5) bestaan uit 'n lugweg (anatomiese dooieruimte) en 'n gaswisselings-area. Die anatomiese dooieruimte begin by die mond en

neusopeninge en strek tot by die einde van die terminale brongioli. Lug vloei via die anatomiese dooieruimte na en van die gaswisselingsarea van die longe wat by die respiratoriese brongioli begin en tot by die alveoli strek (Stewart & Meyer, 1988).

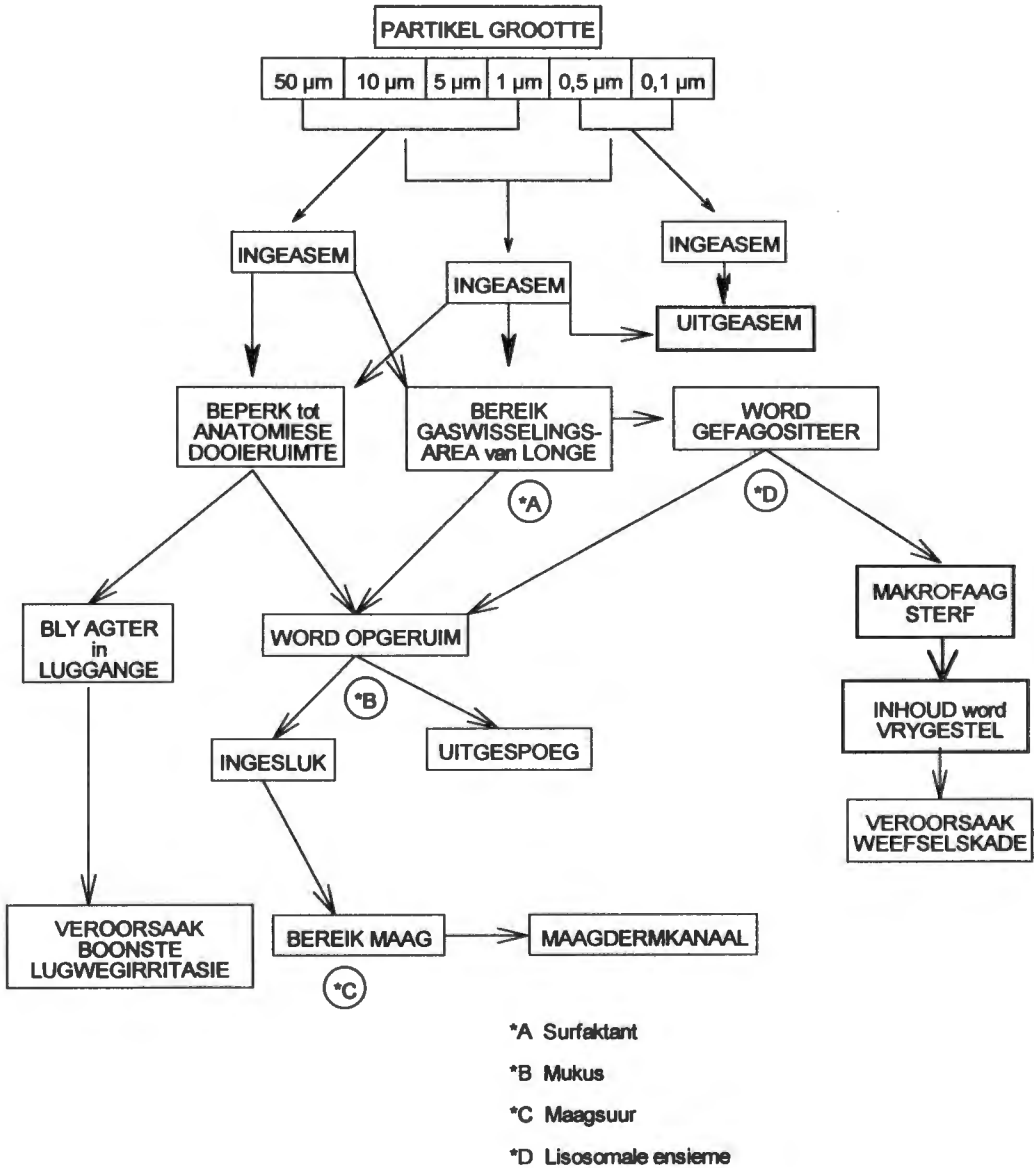


Figuur 2.5. Anatomie van die menslike asemhalingstelsel.

Die lugweë is uitgevoer met meerlagige gesilieerde silinderepiteel wat ook slymsekreterende selle bevat.

Die gaswisselingsarea van die longe bestaan uit 'n enkellaag plaveiselepiteel. Tipe II-pneumosiete, kapillêre epiteelselle en alveolêre makrofage is verantwoordelik onderskeidelik vir produksie van surfaktant, gaswisseling en fagositose van vreemde stowwe.

Die grootste persentasie vliegaspertikels wat die longe bereik (Figuur 2.6) word direk weer uitgeasem sonder dat dit kontak maak met enige deel van die asemhalingstelsel (Tanaka et al., 1983 en Wehner et al., 1980).



Figuur 2.6. Skematiese voorstelling van die mens/vliegasperinteraksie (Alpaugh, 1981).

Partikels met 'n deursnee groter as 10 µm word vasgevang in die mukus wat in die luggange voorkom. Hierdie mukusbolus word vervoer na die nasofarinks waar dit of

ingesluk of uitgespuug word. Partikels kleiner as $10\text{ }\mu\text{m}$ bereik die gaswisselingsarea van die longe waar dit in kontak kom met surfaktant en fagositose kan ondergaan. Na fagositose verlaat die makrofage gewoonlik die alveoli en migreer na die brongieë, waar dit die gefagositeerde partikels vrystel deur die proses van eksfaginasie. Die haarselle van die brongi vervoer die partikels na die nasofarinks waar dit uitgespoeg of ingesluk word. Makrofage kan egter ook in die alveoli agterbly. Nadat die makrofaag afgesterf het word die selinhoud vrygestel. Hierdie vrygestelde partikels is dan weer beskikbaar om gefagositeer te kan word (Alpaugh, 1981).

Na ongeveer drie dae is 50% van die ingeasemde partikels ($0 - 50\text{ }\mu\text{m}$) uit die lugweë verwyder terwyl dit ongeveer 35 dae neem om van 50% van die respireerbare partikels ($0,5 - 7\text{ }\mu\text{m}$) wat die gaswisselingsarea van die longe bereik, ontslae te raak. Na die verloop van 99 dae is slegs 10% van die oorspronklike vliegasparkelers nog teenwoordig in die longe en na 200 dae is al die partikels verwyder (Tanaka et al., 1983).

Griffis et al. (1981) het daarteenoor waargeneem dat dit ongeveer 78 dae neem vir 50% van die ingeasemde partikels ($0 - 50\text{ }\mu\text{m}$) en 127 dae vir al die partikels, om verwyder te word.

Die maksimum tydperk is dus 200 dae waarin 'n vliegasparkel loging kan ondergaan, dit wil sê in aanraking kom met, oplos in of reageer met een of meer van die volgende liggaamsvloeistowwe (Figuur 2.6):

- a) Surfaktant in die gaswisselingsarea van die longe;
- b) mukus in die anatomiese dooieruimte;
- c) maagsuur nadat die mukusbolus ingesluk is; en
- d) lisosomale ensieme nadat die partikel gefagositeer is (Tanaka et al., 1983 en Wehner et al., 1980).

Figuur 2.7 dui aan hoe die liggaam reageer wanneer die respireerbare fraksie van vliegassig die gaswisselingsarea van die longe bereik en logging ondergaan of gefagositeer word (Alpaugh, 1981). Die stowwe wat so vrygestel word mag 'n nadelige effek op die liggaam hê wat kan wissel van akute toksisiteit, kroniese of langtermyn effekte of genotoksiese effekte wat insluit mutagenisiteit en karsinogenisiteit.

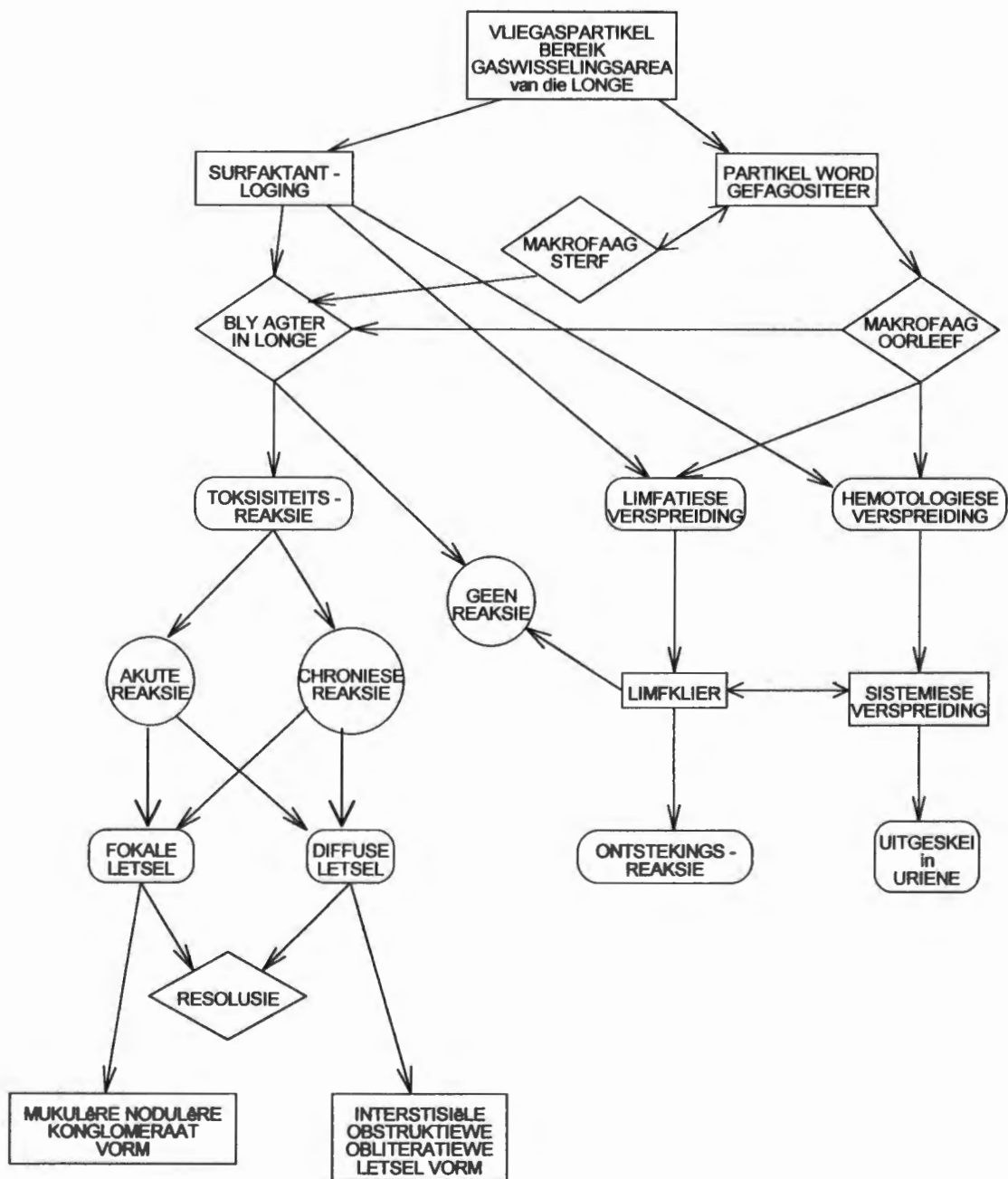
Volgens die *ACGIH is die blootstellingsdrempelwaarde vir gesondheidsgevaarlike stowwe die maksimum konsentrasie van 'n verbinding waaraan die meeste persone herhaaldelik dag na dag vir 'n normale lewensduur blootgestel mag word sonder dat dit 'n nadelige gevolg op hulle gesondheid sal hê (Schröder, 1989).

Blootstelling aan hoë konsentrasies van 'n skadelike verbinding, selfs net vir 'n kort tydperk, kan lei tot 'n akute toksiese reaksie kort na blootstelling.

Die chroniese of langtermyn effek van blootstelling aan subtoksiese vlakke van skadelike verbindings kan jare neem voordat daar enige tekens van toksisiteit voorkom. Dit gebeur omdat die simptome eers presenteer nadat die geakkumuleerde stof die toksiese vlak van die spesifieke verbinding oorskry (Glatz, 1979).

'n Mutageniese effek (Dorland's, 1981) word gekenmerk deur 'n permanente oordraagbare verandering in die genetiese materiaal van 'n sel, gewoonlik 'n enkele geen wat onder andere mag presenteer as 'n tumormassa of as 'n afwyking van die normale wat sigbaar kan wees direk na selreplikasie of eers mag presenteer in die nageslag.

* American Conference of Governmental Industrial Hygienists



Figuur 2.7. Die liggaam se reaksie op 'n vliegaspertikel wat die gaswisselingsarea van die longe bereik.

2.5. Gesondheidsgevaar van sommige verbindings wat algemeen op vliegaspertikels voorkom

Homeostase word in die liggaam vereis om normaal te funksioneer. Om homeostase te verkry moet alle chemiese verbindings in die liggaam binne nougesette grense wees.

Enige verbinding kan 'n ongewenste reaksie teweegbring as dit in 'n kwantiteit voorkom wat hierdie grense oorskry. Dit sluit lewensnoodsaaklike verbindings soos suurstof en water in. Die *ACGIH se blootstellingsdrempelwaardes gee vir ons 'n indikasie van die waardes wat oorskry moet word om moontlik so 'n ongewenste reaksie te veroorsaak.

Die liggaam is nie in staat om enige mineraalelemente self te produseer nie en moet dus al hierdie elemente deur middel van die dieet inneem. Die totale liggaamsinhoud van mineraalelemente word binne nou perke gehou deur die toevoer (inname en absorpsie) en afvoer (uitskeiding) daarvan noukeurig te reguleer aangesien 'n tekort of oormaat mineraalelemente 'n lewensbedreigende gevaar vir die mens kan inhou (Meyer, 1988a).

Chloor, fosfor, kalium, kalsium, magnesium, natrium, en swael word in redelike groot hoeveelhede deur die liggaam benodig. Jodium, kobalt, koper, mangaan, molibdeen, sink en yster word net in spoor hoeveelhede benodig terwyl aluminium, boor, chroom, fluoor, kadmium, litium en seleen ook in die liggaam voorkom alhoewel hulle funksie, indien enige, nie duidelik is nie. Die moontlikheid bestaan ook dat laasgenoemde elemente slegs toevallig in die liggaam voorkom (Meyer, 1988a).

Spoorelemente word uit 'n fisiologiese oogpunt gedefinieer as daardie mineraalelemente wat in minimale hoeveelhede deur die liggaam benodig word. Swaarmetale wat in die bloedplasma voorkom is grotendeels aan die plasmaproteïene gebind. Die vrye (ongebonde) gedeelte is die dinamiese fraksie en verkeer in ewewig met die gebonde fraksie. Die gebonde fraksie funksioneer as 't ware as reserwebron omdat die konjugering van metale aan plasmaproteïene verhoed dat die niere die ongebonde

* American Conference of Governmental Industrial Hygienists

fraksie te gou uitskei (Meyer, 1988a en Smit & Meyer, 1988).

Dallas & Day (1993) klassifiseer metale volgens hulle toksisiteit en voorkomssyfer in die natuur. Aluminium, kalium, kalsium, litium, magnesium, natrium, rubidium, stronsium en yster word gereken as nie-toksiese metale wat volop is. Barium, gallium, hafnium, iridium, lantaan, niobium, osmium, renium, rodium, sirkonium, tantaal, titanium en wolfram word geklassifiseer as toksiese metale wat onoplosbaar of baie skaars is. Metale wat as toksies beskou word en in relatief groot hoeveelhede voorkom, sluit in antimoon, arseen, berillium, bismut, goud, kadmium, kobalt, koper, kwik, lood, nikkel, palladium, platinum, seleen, sink, tallium, telluur en tin.

2.5.1. Aluminium

Aluminium kom altyd gebonde in die natuur voor en vorm gewoonlik verbindings met suurstof, fluoor en silika. Aluminium word beskou as 'n baie reaktiewe metaal en is 'n sterk reduseerder in 'n redoksreaksie.

Aluminium word in die algemeen beskou as nie-toksies. Die inaseming van aluminiumstof mag die lugweg irriteer en kroniese inhalasie kan selfs dispnee, hoes, swakheid, emfiseem en nie-nodulêre pulmonale fibrose (aluminosis) veroorsaak.

'n Sistemiese aluminiumoorlading mag lei tot die ontstaan van sagte beenweefsel wat maklik breek omdat aluminium inmeng met fosfaatabsorpsie. Anemie kan ook ontstaan omdat aluminium die vermoë het om te verbind met transferrien wat tot gevolg het dat yster wat nodig is vir normale eritrosietformasie afwesig of onvoldoende is. Dementia oftewel dialise enkefalopatie, 'n siekte

soortgelyk aan Alzheimer se siekte, is ook al beskryf na 'n oorlading.

Aluminium kan irritasie van die maagdermkanaal veroorsaak en inmeng met fosfaatabsorpsie vanuit die maagdermkanaal. Toksiese vlakke kan bereik word as groot hoeveelhede aluminium ingesluk word (Casarett & Doull, 1975).

Aluminium kan ook die oog irriteer en selfs nekrose van die kornea veroorsaak (RSC, 1989a) as gevolg van die stof se reduserende vermoë.

Volgens Leonard & Gerber (1988) is aluminium nie-karsinogenies en kan die element selfs antikarsinogeniese eienskappe openbaar. Die Royal Society of Chemistry (RSC, 1989a) vind dat karsinogenisiteit wat toegeskryf kan word aan aluminium wel voorkom.

Volgens Kanematsu et al. (1980), Leonard (1988), Leonard & Gerber (1988), Marzin & Hung (1985) en Olivier & Marzin (1987) is aluminium nie-mutagenies van aard. Die RSC (1989a) bevind egter dat aluminium wel mutagenisiteit kan openbaar.

2.5.2. Fosfor

Fosfor speel 'n besondere rol in die liggaam se hemostase waar dit (i) by verbening betrokke is;

(ii) help om die waterstofioonkonsentrasie binne en buite die selle te reguleer; (iii) 'n belangrike aandeel in die metabolisme van koolhidrate, proteïene en vette het;

(iv) in die vorm van adenosientrifosfaat (ATP) as energieskenker optree; en (v) die sintese van stowwe soos fosfolipiede, ensieme, proteïene (bv. kaseïen) en nukleoproteïene reguleer.

Fosfor word beskou as 'n element wat nie-toksies en nie-mutagenies van aard is.

2.5.3. Kalium

Kalium veroorsaak 'n eksotermiese reaksie wanneer dit in aanraking kom met 'n vloeistof, suurstof en/of koolstofdiksied en gevolglik kan dit irritasie of selfs weefselkade veroorsaak in die asemhalingstelsel.

Die ingestie van kalium kan naarheid, braking, diaree en selfs maagwandperforasies en beklemmings veroorsaak.

Irritasie van die oë en vel kan voorkom as kaliumstof of damp in kontak kom met dié stelsels.

Geen inligting aangaande die karsinogeniese of mutageniese potensiaal van kalium is beskikbaar nie (RSC, 1989b).

2.5.4. Kalsium

Kalsium kom altyd gebonde voor. Kalsium as metaal word as nie-toksies beskou alhoewel dit vernietiging van weefsel kan veroorsaak.

Inaseming van kalsium kan ook lei tot irritasie, hoes en dispnee maar sal nie pneumokoniose veroorsaak nie.

Geen inligting aangaande kalsium se karsinogeniese of mutageniese potensiaal is beskikbaar nie (RSC, 1989c).

2.5.5. Lood

Loodvergiftiging is een van die belangrikste bedryfsiektes wat daar is nieteenstaande die feit dat die aantal gevalle van loodvergiftiging gerapporteer en die graad waarin die siekte voorkom aan die afneem is.

Anorganiese lood word nie geredelik geabsorbeer deur die vel nie maar word wel ingeasem en ingesluk. Loodstof, -dampe en -gas word geredelik geabsorbeer vanuit die respiratoriese stelsel waarna dit versprei word na die niere, lewer en skelet. Lood affekteer die eritrosiete,

lewer, niere, hart, testikels en die senuweestelsel (perifeer en sentraal). Blootstelling aan groot hoeveelhede lood affekteer die sentrale senuweestelsel en dit kan hoofpyn, konvulsies, koma en selfs die dood veroorsaak. Chroniese blootstelling veroorsaak gewoonlik nierskade.

Daar is geen bewys dat lood karsinogenies van aard is nie alhoewel dit wel mutageniese eienskappe openbaar en embrionale weefsel nadelig kan beïnvloed (RSC, 1989d).

2.5.6. Magnesium

Magnesium word beskou as 'n metaal met 'n lae toksisiteit. Baie hoë konsentrasies magnesium kan egter toksies wees as dit gepaard gaan met nierdisfunksie. Daar is 'n verhoogde voorkoms van maagdermkanaaldisrupsie by werkers wat gereeld aan magnesium blootgestel word en daar bestaan moontlik 'n verband tussen magnesium en gastroduodenale ulsera. Geen inligting aangaande magnesium se karsinogeniese en mutageniese potensiaal is beskikbaar nie (RSC, 1989e).

2.5.7. Mangaan

Mangaan kom altyd gebonde voor. Die absorpsie van mangaan na ingestie word beheer deur 'n hemostatiese meganisme. Die absorpsie verhoog egter as daar 'n yster-tekort is. Die grootste konsentrasie mangaan kom voor in die lewer en niere. Die biologiese halflewe van mangaan in die volwasse menslike liggaam is tussen twee en vyf weke, afhangend van die liggaamstore. Die halflewe van mangaan is egter langer in die brein en akkumulasie van die element kan plaasvind in dié orgaan as daar 'n oormaat absorpsie plaasvind vir lang tydperke. Hierdie abnormale toestand kan lei tot 'n onomkeerbare breintoestand waarvan die simptome soortgelyk is aan dié van Parkinsonisme (lompheid, growwe tremore van die

vingers, spraakversteurnis, uitdrukkinglose gesig, apatiese gedragspatroon ens.).

Inhalasie van mangaanstof mag lei tot verhoogde vatbaarheid vir pneumonie en brongitis as gevolg van mangaan se lokale effek in die longe. Hipertermie, hoes en dispnee kan ook voorkom. Akute vergiftiging mag presenteer met sudor, bewerasies, borspyn en dispnee. Hierdie simptome presenteer gewoonlik eers 'n paar ure na blootstelling plaasgevind het. Dit duur gewoonlik tussen 24 - 48 uur en verdwyn dan sonder enige behandeling.

Geen data is beskikbaar wat daarop dui dat mangaan karsinogenies of mutagenies van aard kan wees nie (Cook, 1989 en Piscator, 1980).

2.5.8. Molibdeen

Molibdeen is 'n element met 'n baie lae toksisiteit en geen akute/kroniese vergiftiging of karsinogeniese/mutageniese aktiwiteit is al gerapporteer nie (Cook, 1989).

2.5.9. Natrium

Natrium kom altyd gebonde in sy natuurlike staat voor en is hoogs toksies en korroderend. Dit veroorsaak ekstensiewe weefselnekrose as dit in aanraking kom met liggaamsvloeistowwe. Natriumdampe mag die neus, keel en boonste lugweg irriteer as dit ingeasem word en weefsel-skade kan voorkom in die oesofagus en maag wanneer natrium ingesluk word. Daar is geen data beskikbaar aangaande natrium se karsinogeniese of mutageniese potensiaal nie (RSC, 1989f).

2.5.10. Nikkel

Nikkel word oor die algemeen beskou as nie-toksies maar kan wel die volgende teweegbring:

- i) verhoogde risiko van nasale sinus, long en moontlik selfs lorangeale kanker;
- ii) verhoogde voorkoms van maagkarsinoom;
- iii) verhoogde risiko van sarkoom;
- iv) chroniese irritasie van die boonste lugweg wat kan presenteer as rhinitis, sinusitis, nasale septum-perforasie en verlies van reuk;
- v) pulmonale irritasie en fibrose;
- vi) pneumokoniose;
- vii) brongiale asma;
- viii) verhoogde respiratoriese infeksies; en
- ix) dermatitis (Mastromatteo, 1988).

2.5.11. Sink

Sink is noodsaaklik vir die normale funksionering van ongeveer twintig verskillende ensieme wat onder andere alkohol dehidrogenase, alkalie fosfatase en leusien aminopeptidase insluit. Asimptomatiesse akkumulasie van sink vind plaas in die prostaat, beenweefsel, spiere, lewer en niere. Die halfleeftyd van sink is omtrent 'n jaar en ekskresie is via die spysverteringskanaal. Dit wil voorkom of sink nie-karsinogenies van aard is. Sink kan egter chromosoomabnormaliteite veroorsaak in leukosiete en dus kan dit mutagenies van aard wees (Elinder & Piscator, 1979).

2.5.12. Sirkonium en Yttrium

Sirkonium en yttrium word beskou as elemente met lae toksisiteit. Blootstelling aan sirkonium en yttrium kan lei tot 'n verlaging in die hemoglobienkonsentrasie. Sirkonium is egter karsinogenies van aard omdat vel-blootstelling kan lei tot karsinoom (Rowe et al., 1988).

2.5.13. Skandium

Skandium word as 'n nie-toksiese element beskou omdat absorpsie van skandium moeilik plaasvind vanaf die vel, en uit die maagdermkanaal en longe. As dit wel geabsorbeer word vind akkumulasie plaas in die lewer en beenweefsel. Na deponering in die beenweefsel kan dit jare neem voordat dit uit die liggaam verwyder word. Ekskresie van skandium vind hoofsaaklik plaas deur die feases. Tydens akute toksiese vlakke mag 'n verlaging in bloeddruk, die respirasie- en die harttempo plaasvind (Knight, 1988).

2.5.14. Titaan

Titaniumdioksied is 'n matige pulmonale irritant en kan selfs na langdurige blootstelling fokale areas van emfiseem veroorsaak. Geen data betreffende die karsinogeniese en mutageniese potensiaal van titaan is gevind nie (Rowe et al., 1988).

2.5.15. Yster

Yster is 'n essensiële bestanddeel van (i) hemoglobien en (ii) die sitochroom koënsiemstelsel. Ysteroormaat kom in twee vorme voor naamlik siderose en hemochromatose (Meyer & Grey, 1988). Chroniese inhalasie kan lei tot pneumokoniose (Cook, 1989). Geen data is beskikbaar wat daarop dui dat yster karsinogenies of mutagenies van aard kan wees nie.

2.6. Ondersoeke na die effekte van vliegas

Dit sou die ideaal gewees het om die mens as eksperimentele onderwerp te gebruik om te bepaal of 'n substans 'n nadelige effek sou veroorsaak of nie, maar dit word as totaal oneties beskou as gevolg van die nuwe-effekte wat sulke eksperimente mag hê. Gevolglik is daar van hoë-orde proefdiere (sjimpansees, ape, honde ens.) gebruik gemaak in *in vivo* toetse. Daar is egter deur die

jare soms van die gebruik misbruik gemaak wat weerstand teen hierdie praktyke by die publiek ontketen het.

Dit het gelei tot die ontwikkeling van opsporingsmetodes (bioëssaai) wat gebruik maak van lae-orde diere [rotte, muis, marmotte, ens.], weefselkulture [longparenkiem, aap nierselkulture, ens.], geoesde lewendige selle [muislimfoomselle, longmakrofage, ens.], subsellulêre komponente, bv. ensieme [asetielcholiënesterase, melksuurdehidrogenase, peperwortel peroksidase, lusiferase, ens.] en selfs bakterie [*Salmonella typhimurium*]. 'n Bioëssaai kan met sukses aangewend word as 'n opsporingsmetode as gevolg van die feit dat alle lewende organismes inherent dieselfde is ten opsigte van hulle biologiese prosesse in die algemeen, selstruktuur en samestelling, ensiemreaksies, nukleoproteïene en metode van reproduksie. Daar is dus rede om te glo dat een of meer van die bioëssaai in staat sal wees om 'n nadelige effek op die mens vroegtydig te identifiseer (Grabow et al. ,1985).

2.6.1. Effekte verkry tydens proefdier- en bioëssaai studies

Die toksiese en mutageniese effekte wat vliegag mag hê is deur verskeie outeurs ondersoek.

Srivastava et al. (1984) dui aan dat chroom, kalium, kalsium, kobalt, lood, magnesium, mangaan, natrium, nikkel, sink, stronsium en yster voorkom in die longe, lewer, niere, hart, dunderm en serum van proefdiere wat aan vliegag blootgestel was. Hierdie verskynsel is as gevolg van die sistemiese verspreiding van die geloogde metaal- en ander chemiese verbindings wat voorkom op vliegagpartikels.

Chauhan et al. (1987) vind 'n afname in die leukosiet- en eritrosiet telling asook hemoglobieninhoud van rotte na

inhalasieblootstelling. Die daling in die leukosiet- en limfosietelling is 'n kenmerk van 'n immuunrespons teen die ingeasemde partikels.

Die afname in die eritrosietelling en die hemoglobieninhoud kan in verband gebring word met die hemolitiese aktiwiteit van vliegass. Die hemolitiese aktiwiteit kan te wyte wees aan metaalverbindings of die proses waardeur vliegasspartikels vrygestel word in die bloedstroom na die afsterwe van die makrofaag wat die partikel gefagositeer het. Die vrygestelde partikel kan dan hemolise veroorsaak met 'n gevolglike daling in die hemoglobieninhoud (Chauhan et al., 1987).

Wei et al. (1982a) kon egter geen karsinogeniese effek aantoon tydens die intratracheale toediening van vliegass by rotte nie.

Daar is gevind dat vliegasspartikels 'n toksiese effek veroorsaak by longparenkiem, pulmonale makrofage en rot-eritrosiete (Lui et al., 1986, Martin et al., 1983 en Mc LeMore et al., 1984).

Shifrine et al. (1984) voer aan dat die inhibisie van pulmonale makrofaagfunksie en verandering in die reproduksiekinetika van longmakrofage toegeskryf kan word aan die effek wat sink en vanadium op die makrofage het.

Anderson (1983) vind dat die serumoplosbare fraksie van vliegasspartikels chromatiedomruiling in menslike limfosiete veroorsaak en dus mutagenies van aard mag wees.

Die mutageniese potensiaal van vliegasspartikels is deur Fisher et al. (1978) en Kubitscek & Venta (1979) ondersoek. Hierdie navorsers het ook die mutageniese potensiaal van skoorsteenvliegass ondersoek. Hulle het waargeneem dat elektrostatiesgepresipiteerde vliegass-

partikels nie mutagenies van aard is nie. Kleinjans et al. (1989) toon egter aan dat vliegasparkikels 'n mutageniese potensiaal openbaar.

Griest et al. (1982), Harris et al. (1984), Shifrine et al. (1984) en Wei et al. (1982b) skryf die mutagenisiteit van skoorsteenvliegass toe aan die aromatiese koolwaterstoff en nitro-organiese verbindings wat daarin voorkom.

2.6.2. Effekte by die mens waargeneem

In 'n epidemiologiese studie van persone wat blootgestel was aan vliegass vir tien jaar of langer vind Schilling et al. (1988) geen bewyse dat vliegass 'n gesondheidsgevaar inhou nie. Die Canadian Centre for Occupational Health and Safety (CCOHS) beweer dat die gesondheidsgevaar van vliegasspartikels beperk is tot die irritasie van die oë, neus en vel (CCOHS, 1988). Volgens Bilek et al. (1976) hou vliegasspartikels wat in kontak kom met die vel en oë van 'n mens geen gevaar in nie.

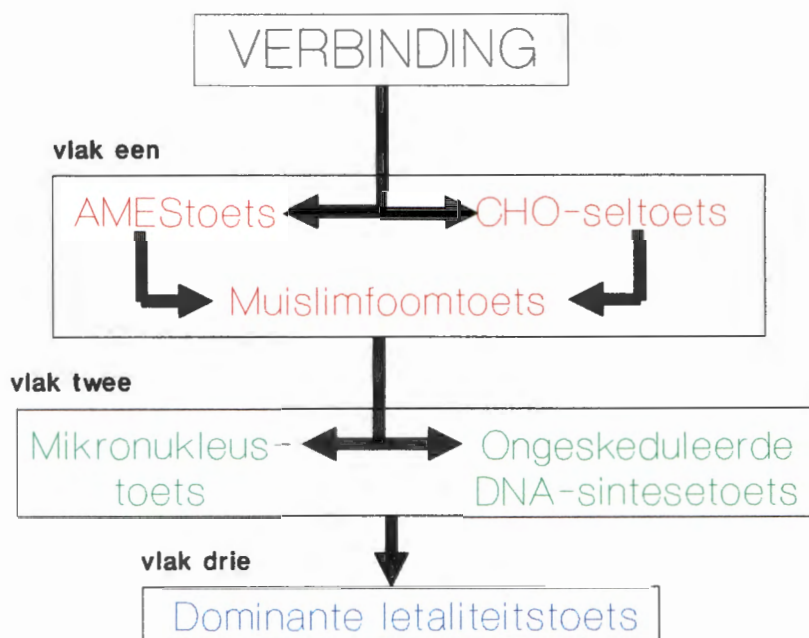
2.7. Biologiese opsporingsmetodes vir die bepaling van nadelige effekte van omgewingstowwe

Die European Economic Council (EEC) asook die Organisation for Economic Co-operation and Development (OECD) stel riglyne voor wat gebruik kan word om die toksiese en mutageniese potensiaal van 'n verbinding te bepaal (EEC, 1993 en OECD, 1986).

Die *EEC stel 'n drievlaktoetsprotokol (Figuur 2.8) voor om uitsluitel te gee oor die mutageniese potensiaal van 'n verbinding (EEC, 1993). As daar 'n positiewe resultaat gevind word in enige van die toetse in 'n vlak moet daar beweeg word na die volgende vlak. Slegs nadat al hierdie toetse deurloop is kan daar uitsluitel gegee

* European Economic Council

word oor 'n verbinding se vermoë om as 'n mutageen op te tree.



Figuur 2.8. Organogram ter illustrasie van die toetse wat gebruik kan word om die mutageniese potensiaal van 'n verbinding te bepaal (EEC, 1993).

2.7.1. Karsinogeniteits-/Mutagenisiteitstoetse

Volgens die International Commission for Protection against Environmental Mutagens and Carcinogens (ICPEMC) is die Amestoets die enigste mikrobiologiese toets wat voldoen aan die meeste van die kriteria wat die kommissie stel vir toetse om karsinogenisiteit vinnig en akkuraat te bepaal (Purchase, 1982) nieteenstaande die feit dat Glatz (1979) bevind het dat die Amestoets nie in staat is om metaalkarsinogene aan te toon nie. Leonard (1988) onderskryf Glatz se bevinding en skryf die tendens toe aan die moontlike chelering van metale aan

cheleringsagente wat in die agarplate gebruik word. Die aanvaarbaarheid van die Amestoets as 'n indikator van 'n substans se mutageniese potensiaal is bevestig tydens 'n studie waar 300 bekende karsinogene (sommige komplekse mengsels) geëvalueer is (Mc Cann et al., 1975). Volgens Ames & Mc Cann (1981) is daar 'n 83% korrelasie tussen 'n stof se vermoë om as karsinogeen op te tree en sy vermoë om mutagenies van aard te wees.

2.7.1.1. Amestoets

Alle bakteriese toetsstamme wat in die Amestoets gebruik word het hulle oorsprong in *Salmonella typhimurium* LT2. Die oorspronklike LT2-stam is gemanipuleer sodat dit meer gevoelig is om mutagene te identifiseer.

In die geval van die TA98- en die TA100-toetsstam wat in die Amestoets gebruik word, word 'n R-faktor plasmied te wete pKM101, bygevoeg. Die R-faktor plasmied verhoog die sensitiwiteit van die toetsstamme se vermoë om as mutageniese indikator op te tree.

Die *hisD3052*-mutasie van die TA98-toetsstam kom voor in die *hisD*-geen wat betrokke is in die kodering vir die histidol dehidrogenase. Hierdie toetsstam is gevoelig vir mutagene wat 'n volgordeverskuiwing van aminosure veroorsaak (Ames, 1971).

Die *hisG46*-mutasie in die TA100-toetsstam kom voor in die *hisG*-geen wat 'n rol speel in histidien biosintese (Ames, 1971). Die TA100-toetsstam is gevoelig vir mutagene wat 'n basispaarvervanging veroorsaak.

Sommige verbindings moet eers in aanraking kom met lewerensieme alvorens dit as mutageen kan optree. S9 is 'n lewerensiemekstrak wat aangewend word om hierdie metaboliese aktivering te bewerkstellig (Maron & Ames, 1983 en Czygan et al., 1973).

S9 word verkry van lewers van geïnduseerde rotte.

Die Amestoets kan op twee maniere uitgevoer word. Die eerste metode is die Koltoets (Spot test) waar daar slegs 'n druppel van die substans wat geëvalueer word op 'n agarplaat gedrup word. Hierdie metode word gebruik as siftingstegniek omdat dit 'n sogenaamde alles-of-niks-toets is. In die toets reageer die substans wat geëvalueer word óf positief (baie terugslaankolonies vorm om die plek waar die druppel geplaas is) óf negatief (geen vorming van terugslaankolonies of baie min kolonies wat wyd verspreid is oor die oppervlak van die hele plaat, vorm). Die tweede metode is om die substans wat geëvalueer moet word, in die agar self te inkorporeer. Hierdie metode word die meeste gebruik maar is duur en groot hoeveelhede van die substans wat geëvalueer word, word benodig. Die graad van mutagenisiteit kan met dié metode bepaal word as daar van verdunnings van die substans gebruik gemaak word.

2.7.2. Toksisiteitstoetse

Daar is 'n groot verskeidenheid toetse wat gebruik word om omgewingsgifstowwe in vloeistowwe aan te toon bv. die visletaliteitstoets [*Micropterus salmoides*, *Poecilia reticulata*] (US EPA, 1985) die watervlooiletaliteitstoets [*Daphnia pulex*, *Daphnia magna*] (US EPA, 1985), die Soogdierseltoets (Kfir, 1981), en die Metaalindikator-toets (Metelerkamp, 1986) om net 'n paar te noem. Hierdie omgewingsgifstowwe mag voorkom in varswater, afvalwater, sedimente, logings, ekstraksies of in enige ander vloeistofvorm.

Die toetse wat plaaslik die algemeenste gebruik word om die akute toksiese potensiaal van 'n oplossing te bepaal om die mens se gesondheid te beskerm, sluit onder andere die *Daphnia*toets en die Soogdiersel-kolonievormingstoets

in. Hierdie toetse is gesog omdat hulle vinnig (binne 4 tot 7 dae) betroubare resultate verskaf in teenstelling met die tradisionele toetse met diere soos die herhalende dosis orale toksisiteitstoets [rot - 28 dae studie], subtoksiese orale toksisiteitstoets [rot/hond - 90 dae studie], en die chroniese toksisiteitstoets [hond - 12 maande studie].

Volgens Dallas & Day (1993), Elnabarawy *et al.* (1986), Kfir (1981), Metelerkamp (1986) en Slabbert *et al.* (1992) verskil die sensitiwiteit van die *Daphnia*toets, die Soogdierselkolonievormingstoets en die Metaalindikator-toets van mekaar (Tabel 2.3).

Die *Daphnia*toets is baie gewild omdat dit sensitief is en resultate verskaf binne 48 uur. Verder word minder toetsmateriaal benodig omdat die toets suksesvol geminiaturiseer kan word.

Die Soogdierselkolonievormingstoets word beskou as die sensitiefste van die drie genoemde toetse, maar vereis 'n hoë tegniese vaardigheid om uit te voer. Groot volumes toetsmateriaal word ook benodig en dit neem 'n lang tyd voordat resultate beskikbaar is.

Die Metaalindikator-toets is nog nie as 'n kommersiële toetsstel beskikbaar nie en kan slegs in laboratoria uitgevoer word wat oor die tegniek beskik. Die toets is ook nie so sensitief soos die voorgenoemde toetse nie, maar is baie nuttig om die teenwoordigheid van metale in toetsmateriaal aan te toon. Die toets kan verder suksesvol geminiaturiseer word en resultate is binne twee ure beskikbaar.

Elemente	<i>Daphniatoets</i>	Soogdiersel- kolonievormings- toets	Metaal- indikatortoets
	*48-h LD ₅₀ (d.p.m)	Oorlewingsyfer by spesifieke konsentrasies (d.p.m)	Konsentrasie wat 0,5 mg/ml ensiem inhibeer (d.p.m)
Aluminium	3,900	-----	-----
Antimonium	9,000	-----	-----
Arseen	7,400	-----	-----
Barium	14,500	-----	-----
Kadmium	0,319	69,6% by (0,065)	10,0
Kroom	1,790	-----	-----
Kobalt	-----	-----	10,0
Koper	0,031	30,2% by (0,025)	1,0
Kwik	0,004	57,9% by (0,005)	0,005
Lood	2,003	37,7% by (0,300)	> 30,0
Magnesium	-----	-----	> 130,0
Nikkel	0,510	-----	10,0
Seleen	2,500	-----	-----
Silwer	0,002	-----	0,1
Sink	-----	-----	5,0
Uraan	13,000	-----	-----
Yster	9,600	-----	-----

Tabel 2.3. Vergelyking tussen die *Daphniatoets*, die Soogdierselkolonievormingstoets en die Metaalindikatortoets in terme van gevoeligheid (Dallas & Day, 1993; Elnabarawy et al., 1986; Kfir, 1981; Metelerkamp, 1986 en Slabbert et al. 1992.

2.8. Logging van vliegasparkels in liggaamsvloeistowwe

Soos reeds vermeld (sien gedeelte 2.4), kom die vliegasparkels hoofsaaklik in aanraking met mukus in die lugweë, surfaktant in die longe, lisosomale ensieme na fagositose en maagsap wanneer die partikels ingesluk word.

Die aluminosilikaatglasmatriks van 'n vliegasparkel kan geloog word as dit vir lang periodes aan surfaktant

*Konsentrasie waar 50% van toetsorganismes dood is na die verloop van agt en veertig uur

blootgestel word (Golden *et al.*, 1982, Rothenberg *et al.*, 1988 en Wehner *et al.*, 1980).

Lundborg *et al.* (1984, 1985) en Marafante *et al.* (1987) neem waar dat die logingstempo van 'n partikel wat deur 'n makrofaag gefagositeer is, hoër is as die logingstempo met gedistilleerde water. Die biologiese aktiwiteit van oppervlaksgeassosieerde chemikalieë is groter as wat verwag word van chemikalieë wat regdeur die partikel versprei is omdat die oppervlak van die partikel direk in aanraking kom met die weefsel- en liggaamsvloeistowwe (Shifrine *et al.*, 1984). Rothenberg *et al.* (1988) postuleer dat die hoeveelheid bio-beskikbare materiaal hoër sal wees as wat voorspel kan word met *in vitro* oplossing- of logingstudies.

Brown *et al.* (1976) vind dat die chloor- en swael-metaalverbindinge wat voorkom op vliegass maklik gelooë kan word in water. Oplosbare kalsium en magnesium word stadiger gelooë weens hul lae oplosbaarheid in water. Spoorelemente soos arseen en boor word uiters stadig gelooë as gevolg van hul lae oplosbaarheid en omdat hulle meestal geënkapsuleer is in die glasmatriks. Raask (1980) bevestig dat arseen, boor, chroom, kadmium, koper, lood, magnesium, nikkel en selenium stadig gelooë word.

Bradshaw & Slavin (1989) en Liskowitz *et al.* (1986) vind dat loging van oppervlaksoksiede plaasvind binne 'n tydperk van 10 minute. Tidy (1986) toon aan dat die oplosbare fraksie binne 5 - 10 sekondes loog na kontak met 'n vloeistof. Lui *et al.* (1986) loog vliegass-partikels egter vir 15 minute.

Volgens Harris & Shifrine (1987) is die gebruik van biologiese akkurate oplosmiddels (soos dit voorkom in die liggaam) noodsaaklik omdat die vorm waarin die

metaalverbindings aangetref word na loging, 'n belangrike effek sal hê op die biologiese aktiwiteit van die geloopte verbindings.

Die reaksie van die liggaam op die vliegaspertikels, die tipe vloeistowwe waarmee die partikels moontlik in aanraking kan kom, en die gemak asook akkuraatheid waarmee daardie vloeistof nageboots kan word, is dus faktore wat in aanmerking geneem moet word met die keuse van die logingsvloeistowwe wat gebruik word.

2.8.1. Surfaktant

In die liggaam word surfaktant geproduseer deur die Tipe II pneumosiete wat in die gaswisselingsarea van die longe voorkom. Gesimuleerde surfaktant is identies aan longsurfaktant (Tabel 2.4) behalwe dat die proteïen-komponent soos gevind in menslike longsurfaktant vervang is met 'n ionies-ekwivalente konsentrasie sitraat (Moss, 1979).

Ione	Longsurfaktant (meq/l)	Gesimuleerde surfaktant (meq/l)
Kalium	4,0	4,0
Kalsium	5,0	5,0
Magnesium	2,0	2,0
Natrium	145,0	145,0
Totale Katione	156,0	156,0
Asetaat	7,0	7,0
Bikarbonaat	31,0	31,0
Chloried	114,0	114,0
Fosfaat	2,0	2,0
Proteïene	1,0	-----
Sitraat	-----	1,0
Sulfaat	1,0	1,0
Totale Anione	156,0	156,0
pH	7,3 - 7,4	7,3 - 7,4

Tabel 2.4. Komposisie van longsurfaktant en gesimuleerde surfaktant

Die vervanging van die proteïenkomponent met sitraat is geregverdig omdat die proteïeninhoud van surfaktant nog nie deeglik gekarakteriseer is nie en omdat die vervanging van proteïene nie die oplosbaarheids-eienskappe sal beïnvloed nie (Kalkwarf et al., 1984).

Deur gebruik te maak van gesimuleerde surfaktant het Kalkwarf et al. (1984) antimoon, arseen, barium, chroom, kalsium, kobalt, koper, kwik, lood, mangaan, neodimium, nikkel, silwer, sink en uraan suksesvol geloog uit vliegass.

2.8.2. Fisiologiese natriumchloriedoplossing

'n Fisiologiese natriumchloriedoplossing van 0,9% kan gebruik word om die interaksie van vliegass met liggaamswater (soos gevind in mukus) te simuleer omdat dit dieselfde osmotiese eienskappe het as liggaamswater.

2.8.3. Soutsuur

Glasser et al. (1984) vind dat soutsuur 'n beter logingsvloeistof is as die ekwivalente konsentrasie salpetersuur en swaelsuur.

Volgens Theron & van Papendorf (1988) is maagsap 'n komplekse mengsel van organiese en anorganiese komponente wat onder andere soutsuur, proteolitiese ensieme, proteoglikane, intrinsieke faktor en gastrien insluit. Die hoofbestanddeel is egter soutsuur en gevolglik is die pH van maagsap ongeveer 1,4.

Een normaal (1N) reagens gehalte soutsuur kan gebruik word as logingsvloeistof om maagsap te simuleer.

2.8.4. Lisosomale ensieme

Die intrasellulêre reaksies wat plaasvind na die fagositoseproses is baie kompleks en gevolglik sal die

effek van fagositose op die vliegaspertikels slegs bepaal kan word deur gebruik te maak van proefdiere of limfosiete wat verkry is van proefdiere. Die effek van lisosomale ensieme op die vliegaspertikel is dus te kompleks om te simuleer.

HOOFSTUK 3

METODES

3.1. Verkryging van vliegaspertikels

Vliegaspertikels is verkry vanaf Kendal-, Lethabo- en Matimbakragstasie omdat die kragstasies voorsien word van steenkool uit verskillende steenkoolvelde (Tabel 2.1).

Die vliegaspertikels is verkry van staalbalke in die werkareas en is waarskynlik dié vliegaspertikelfraksie waaraan werkers blootgestel is.

3.2. Fraksionering van vliegass

Die vliegaspertikels versamel in die drie kragstasies is verdeel in 'n respireerbare en 'n nie-respireerbare fraksie deur gebruik te maak van 'n Endocott meganiese sifvibrator. Twee metaalsiwwe (poriegrootte onderskeidelik 20 en 50 μm) en 'n nylonsif (poriegrootte 10 μm) is as 'n siftingstrein gebruik tydens die fraksioneringsproses. Die vliegass wat deur die nylonsif geval het, is in 'n opvangbak versamel. Hierdie vliegaspertikels verteenwoordig die respireerbare fraksie. In hierdie studie is daar slegs gebruik gemaak van die respireerbare fraksie.

Die fraksioneringsproses is uiters tydrowend en gevolglik is die hoeveelheid van die respireerbare fraksie wat verkry is, beperk. Dit het tot gevolg gehad dat die tipe toetse wat gebruik is om die eienskappe van die vliegass te bepaal baie oordeelkundig geselekteer moes word om die maksimum inligting te bekom deur die minimum hoeveelheid vliegass te gebruik.

3.3. Fisiese eienskappe

Die metode gevolg om van die fisiese eienskappe van die vliegass wat van die vermelde kragstasies afkomstig is, te bepaal, word vervolgens behandel.

3.3.1. Partikeldeursnee

Die partikeldeursnee is bepaal deur gebruik te maak van 'n Galai infrarooi partikelanaliseerder. 'n Suspensie van vliegass en water is gemaak. Die gesuspendeerde partikels se deursnit is bepaal deur dit verby die sensors in die analiseringskolom van die partikelanaliseerder te laat vloei.

3.3.2. Kwartsinhoud

Die kwartsinhoud van die verskillende vliegassmonsters is bepaal met behulp van 'n Perkin Elmer 1750 infrarooi spektrofotometer.

3.3.3. Chemiese samestelling

Die standaardmetode soos beskryf deur Bosch & Willis (1990) is gebruik om die verskillende oksiede (Al_2O_3 , CaO , Fe_2O_3 , K_2O , MgO , Na_2O , P_2O_5 , SiO_2 en TiO_2), asook die spoorelementkonsentrasies (arseen, barium, bismut, broom, chroom, gallium, germanium, kobalt, koper, lantaan, lood, mangaan, molibdeen, neodimium, nikkel, niobium, rubidium, seleen, serium, sink, sirkonium, skandium, stronsium, torium, uraan, vanadium, wolfram en yttrium) van die verskillende vliegassmonsters te bepaal.

'n Siemens SRS-303AS en/of 'n Philips PW 1400 X-straal fluorosensie spektrofotometer is hiervoor gebruik.

3.4. Loging van vliegass

Gedurende die logingsproses is daar gebruik gemaak van glasware wat deeglik gewas en daarna twee keer afgespoel

is in gedeïoniseerde gedistilleerde water alvorens dit in drooggoonde gedroog is.

3.4.1. Gesimuleerde liggaamsvloeistowwe gebruik as logingsvloeistof

Fisiologiese natriumchloriedoplossing, soutsuur en gesimuleerde surfaktant is as logingsvloeistowwe gebruik.

3.4.1.1. Fisiologiese natriumchloriedoplossing

Fisiologiese natriumchloriedoplossing (SABEX) is gebruik. Die oplossing het 'n pH van 5,0 en bestaan uit 154 meq/l natrium en 154 meq/l chloried om 'n sterkte van 0,9% te verkry.

3.4.1.2. Soutsuur

Een normaal (1N) reagens gehalte soutsuur (MERCK) is gebruik.

3.4.1.3. Gesimuleerde surfaktant

Gesimuleerde surfaktant is berei deur gebruik te maak van 'n metode wat deur Kalkwarf et al. (1984) beskryf is.

Die onderstaande reagens gehalte chemikalieë is by 990 ml gedistilleerde water gevoeg om die gesimuleerde surfaktant, soos in Tabel 2.4 gespesifiseer, te verkry:

0,2033 g magnesiumchloried hexahidraat;

6,0193 g natriumchloried;

0,2982 g kaliumchloried;

0,2680 g natriummonowaterstof-fosfaat heptahidraat;

0,0710 g natriumsulfaat;

0,3676 g kalsiumchloried dihidraat;

0,9526 g natriumasetaat trihidraat;

2,6043 g natriumbikarbonaat; en

0,0970 g natriumsitraat dihidraat.

Die pH van die oplossing is ingestel tussen 7,3 en 7,4 deur klein hoeveelhede een normaal (1N) soutsuur by die oplossing te voeg. Gedistilleerde water is bygevoeg om die oplossing tot 1 000 ml aan te vul.

3.4.2. Logingsmetode

Die logingsmetode is 'n kombinasie van metodes beskryf deur Hollis et al. (1988) en Lui et al. (1986).

Tien gram vliegaspertikels is in 'n sentrifugeerbuis geplaas waarby 50 ml van een van die drie gesimuleerde liggaamsvloeistowwe (sien gedeelte 3.4.1.) gevoeg is (Hollis et al., 1988). Die vliegaspertikels is in die logingsvloeistof vir 15 minute gesuspendeer deur middel van 'n Branson B 321-ultrasoneerder (op maksimum verstelling). Die ultrasonisering was noodsaaklik om te verhoed dat die vliegaspertikels saamklomp wat interaksie tussen die vliegase en die logingsvloeistof sou benadeel. Die vloeistof in die ultrasoneerder is verhit tot 37°C om die gemiddelde liggaamstemperatuur na te boots (Lui et al., 1986).

Die suspensie is dan gesentrifugeer teen 10 000 omwentelinge per minuut. Die supernatant (vloeistof bokant die gevormde sediment) is verwyder met behulp van 'n pipet. Die supernatant (48 ml) is weer gesentrifugeer nadat dit in skoon sentrifugeerbuisse geplaas is om enige oorblywende vliegaspertikels te verwyder wat moontlik nog in die supernatant voorkom. Die supernatant is verdeel in twee hoeveelhede van 24 ml elk en die flesse met die vloeistof is in 'n drogingsoond geplaas om teen 37°C afgedamp te word. Twee flesse gevul met 24 ml van elk van die suiwer logingsvloeistowwe is ook afgedamp.

Die hoeveelheid supernatant wat verkry kon word is beperk deur die hoeveelheid respireerbare vliegaspertikels wat verkry is tydens die fraksioneringsproses.

3.5. Analise van die supernatant

Voor die aanvang van die chemiese analises is die afgedampde supernatant gehidreer tot die oorspronklike volume (24 ml) deur gebruik te maak van gedeïoniseerde gedistilleerde water.

Voor die aanvang van die biologiese analises is die afgedampde supernatant gehidreer tot die oorspronklike volume (24 ml) deur gebruik te maak van matige hardewater. Matige hardewater word voorberei deur 96 g NaHCO_3 , 60 g CaSO_4 , 60 g MgSO_4 en 4 g KCl op te los in 1 000 ml gedistilleerde water. Die water word vir 24 uur belug voor gebruik.

3.5.1. Chemiese analise

Die aluminium-, fosfor-, kalium-, kalsium-, magnesium-, titaan-, en ysterinhoud is bepaal met behulp van 'n Varian AA 1475-spektrofotometer (Bosch & Willis, 1990). Die spoorelemente koper, lood, mangaan, molibdeen, natrium, nikkel, sink, sirkonium, skandium en yttrium is bepaal met behulp van 'n Jarrell-Ash Atom Scan 2400 IGP AES-spektrofotometer (Bosch & Willis, 1990).

3.5.2. Biologiese analise

Vanweë die beperkte volume monster wat beskikbaar was moes die toetse so gekies word dat klein volumes gebruik kon word.

3.5.2.1. Toksiese potensiaal

Die *Daphniatoets* (US EPA, 1985) is gebruik om die toksiese potensiaal van die verskillende logings te bepaal omdat die *Daphniatoets* die potensiaal het om

suksesvol geminiaturiseer te word en dus word minder vloeistof benodig om die toetse uit te voer. Die *Daphniatoets* is geminiaturiseer deur slegs 1 ml vloeistof te gebruik per toets in plaas van die voorgeskrewe 25 ml. Die welslae van die miniaturisasieproses is geverifieer deur gebruik te maak van kontroles.

Daphnia pulex is gebruik as toetsorganisme. Voor die aanvang van die *Daphniatoets* is eierdraende *Daphnia pulex* verwyder uit hul teelbakke en oorgeplaas in 100 ml glasbekers (sewe per beker) gevul met matige hardewater. Na die verloop van 24 uur is al die dagoue *Daphnia pulex* uitgevang en oorgeplaas in 'n 25 ml glasbeker gevul met 5 ml matige hardewater. Hierdie glasbeker het as 'n poel van organismes gedien.

Vyf *Daphnia pulex* is vervolgens verwyder uit die poel van organismes en geplaas in 'n put van 'n "Limbro Tissue Culture Multiwell Plate" gevul met 1 ml van die vloeistof waarvan die toksisiteit bepaal moes word. Vier putte is gebruik om dieselfde oplossing te toets; 'n totaal van 20 organismes is dus gebruik om elke konsentrasie van elke logingsvloeistof te bepaal. Vir elke 20 organismes (vier putte) wat gebruik is, is daar vyf organismes (een put) as 'n kontrole gebruik. In die kontrole is matige hardewater (natuurlike habitat van die organismes) gebruik as toetsoplossing. Na verloop van 48 uur is die aantal organismes wat enige teken van lewe getoon het, getel.

Die aantal organismes wat per toetsoplossing gesterf het ($n = 20$) is gebruik om die persentasie sterftes wat in elke toetsoplossing voorgekom het, te bereken.

Die *Daphniatoets* is in twee fases uitgevoer. In die eerste fase is die toksiese spektrum van die verskillende logings bepaal (siftingstoets). Vir die siftingstoets is

verdunningskonsentrasies ([]) van $1/10$, $1/100$ en $1/1000$ geselekteer. In die tweede fase (definiteitstoets) is serieverdunnings gemaak binne die perke van die reikwydte bepaal in die siftingstoets. Die reikwydte wat gekies word behoort altyd 'n 100% effek en 'n 0% effek in te sluit.

3.5.2.2. Mutageniese potensiaal

Die Ames Koltoets (Maron & Ames, 1983) is as 'n inisiële siftingstoets gebruik om die mutageniese potensiaal van die logings te bepaal omdat dit eenvoudig is en betroubare resultate verskaf. Die Amestoets is egter nie suksesvol om metaalmutagene op te spoor nie (Glatz, 1979 en Leonard, 1988). Dit kan dus gebruik word om te onderskei tussen mutagenisiteit veroorsaak deur metale en mutagenisiteit veroorsaak deur ander verbindings wat vrykom tydens die logingsprosedure.

Die volgende metode is gevolg gedurende die Amestoets:

Minimale agarbasisplate (sien gedeelte 3.5.2.2.1.) is voorberei. Topagarmengsel (sien gedeelte 3.5.2.2.2.) is op hierdie agarplate gegiet. By stolling is die plaat verdeel in vier segmente. 'n Druppel van die toetsoplossing is in die middel van elk van die segmente geplaas. Die plate is vir 48 uur onderstebo geïnkubeer by 37°C . Na verloop van die inkubasieperiode is die agarplate nagegaan om die uitslag van die eksperiment te bepaal (sien gedeelte 2.7.1.1.). Steriliteitskontroles (sien gedeelte 3.5.2.2.5.1.) en positiewe kontroles (sien gedeelte 3.5.2.2.5.2.) is ook uitgevoer.

3.5.2.2.1. Minimale agarplate

Tydens die voorbereiding van die plate is daar uiters steriel gewerk om te voorkom dat enige van die plate of

bestanddele van die plate gekontamineer word met mikro-organismes.

Die minimale agarplate is soos volg voorberei:

Outoklaveer 'n mengsel van 15 g agar en 20 g glukose wat by 900 ml water gevoeg is vir 20 minute by 121°C. Laat die mengsel afkoel tot 50°C. Vermeng 100 ml Vogel-Bonner medium (by kamertemperatuur) met dié oplossing. Giet 30 ml agaroplossing in 90 mm deursnee gammastraal gesteriliseerde Promex petribakkies. Stoor die agarplate onderstebo by 4°C nadat die agar gestol het.

Die Vogel-Bonner medium word voorberei deur 2 g magnesiumsulfaat ($\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$), 20 g sitroensuur (met H_2O), 100 g kaliumfosfaat (K_2HPO_4) anhidrase en 35 g natriumammoniumfosfaat ($\text{NaNH}_4\text{HPO}_4 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$) agtereenvolgens by gedistilleerde water te voeg. 'n Bestanddeel moet eers heeltemal opgelos wees voordat die volgende een bygevoeg word. Die oplossing word dan aangevul tot 1 000 ml deur gedistilleerde water by te voeg waarna 'n 100ml hoeveelheid daarvan oorgegiet word in glasflesse. Die flesse word vir 20 minute ge-outoklaveer teen 121°C en daarna toegelaat om af te koel alvorens dit gestoor is teen 4°C totdat dit benodig is.

3.5.2.2.2. Topagarmengsel

'n Hoeveelheid van 6 g agar en 5 g natriumchloried word gevoeg by 1 000 ml gedistilleerde water. Die mengsel word verhit totdat die agar smelt waarna 100 ml van die agarmengsel oorgegiet word in glasflesse. Die gevulde glasflesse word ge-outoklaveer by 121°C vir 20 minute en nadat dit afgekoel het word dit gestoor by 4°C vir latere gebruik.

Voor gebruik word die mengsel verhit deur dit vir 20 minute te outoklaveer teen 121°C en daarna in 'n waterbad (teen 43°C) geplaas om af te koel. 'n Hoeveelheid van 10 ml Histidien-Biotien word by 43°C by die mengsel gevoeg.

Histidien-Biotien word voorberei deur 0,0262 g (0,5 mM) L-histidien en 0,0305 g (0,5 mM) D-biotien by 250 ml gedistilleerde water te voeg. Die mengsel word gedekontamineer deur dit te filtreer deur 'n 0,22 µm Micropore filter.

Die volgende prosedure is gevolg om die topagar voor te berei:

Plaas 2 ml van die agar Histidien-Biotienmengsel in 'n glasbuis in 'n waterbad teen 43°C. Voeg 0,1 ml oornag-gekweekte kultuur van die betrokke toetsstam (TA98 of TA100) by die agar Histidien-Biotienmengsel. 'n Hoeveelheid van 0,5 ml S9-mengsel (indien benodig) of 0,5 ml ge-outoklaveerde water word by die agar Histidien-Biotienmengsel gevoeg. Hierdie mengsel is oor die minimale agarplate gegiet en die plaat is gekantel sodat die hele plaat bedek is. Die plaat is dadelik toegemaak

3.5.2.2.3. S9

Die S9 word voorberei van die lewers wat verkry is van rotte wat vooraf geïnduseer is met Aroclor 1254. Die induksieprosedure gevolg (3.5.2.2.4) is soortgelyk aan dié beskryf deur Kier et al. (1974) en Czygan et al. (1973).

Om 1 ml S9 te vervaardig word 50 µl van die lewerensiemekstrak gevoeg by
20 µl 8 mM magnesiumchloried,
20 µl 33 mM kaliumchloried,
500 µl 0,2 M fosfaatbuffer (pH 7,4),

5 μ l 1 M glukose-6-fosfaat en

40 μ l 4 mM nikotienadenien difosfaat.

Hierdie mengsel word aangevul tot 'n volume van 1 ml deur 365 μ l gedistilleerde water daarby te voeg.

3.5.2.2.4. Induksiemetode

Manlike Sprague-Dawley rotte met 'n massa van ongeveer 200 g is gebruik. Aroclor 1254 word verdun in graanolie tot 'n konsentrasie van 200 mg/ml. 'n Enkele intra-peritoniale inspuiting van 500 mg/kg is toegedien aan elke rot vyf dae voordat die rot gedood is.

Die rotte is gedood deur servikale dislokasie en is daarna op hulle rug geplaas op 'n disseksiebord. Die pote van die rot is veranker op die disseksiebord met kopspele. Die vel in die abdominale area is ontsmet deur gebruik te maak van 95% etanol. 'n Snit is deur die vel gemaak met 'n skalpel. Die vel is teruggevou en vasgespeld op die disseksiebord. Die ontblote area is ontsmet met 95% etanol. Die abdominale holte word ontbloot deur gebruik te maak van die stompdisseksiemetode en die lewer verwyder. Daar is versigtig te werk gegaan om te verhoed dat enige skade aan die oesofagus of dun- en dikderm voorkom tydens disseksie.

Die verwyderde lewer (massa tussen 10 en 15 g) is geplaas in voorafgeweegde koue (0-4°C) glasbekers wat 1 ml koue (4°C) 0,15 M kaliumchloried per gram nat lewer bevat. Die lewers word nou herhaaldelik met koue kaliumchloried gewas om die steriliteit van die lewer te verseker en om die aktiwiteit van Sitochroom P450 te inhibeer. Die lewer is na die wasproses in 'n glasbeker geplaas wat 3 ml koue 0,15 M kaliumchloried per gram nat lewer bevat.

Die lewer word gehomogeniseer met behulp van 'n Polytron homogeniseerder nadat die lewer opgesny is in kleiner

stukkies. Die gehomogeniseerde lewer word afgeswaai teen 8 700 o.p.m. vir 10 minute. Die supernatant word verwyder en gestoor teen -70°C totdat dit benodig word. Tydens gebruik word die S9-mengsel in ys geplaas sodat dit nie 4°C oorskry nie (Garner et al. 1972 en Maron & Ames, 1983).

3.5.2.2.5. Kontrole

3.5.2.2.5.1. Steriliteitskontrole

Steriliteitskontroles is uitgevoer om te bepaal of daar enige kontaminasie van die agarplate plaasgevind het gedurende die vervaardigingsproses. Die steriliteitskontroles is uitgevoer op die volgende kombinasies:

- 1) Minimale agarplaat;
- 2) 1 + topagarplaat;
- 3) 2 + Histidien-Biotien;
- 4) 3 + ge-outoklaveerde water; en
- 5) 3 + S9.

Waar daar enige groei van organismes by die steriliteitskontroles is sal die hele toets as ongeldig verklaar moet word aangesien kontaminasie van die plate plaasgevind het.

3.5.2.2.5.2. Positiewe kontrole

Fluoro-amien word as toetsvloeistof gebruik in die geval van die TA98-toetsstam met S9. Natriumasied vervul dié rol in die geval van die toetsstam TA100 sonder S9. Die teenwoordigheid van groot hoeveelhede terugslaankolonies wat vorm op die verskillende positiewe kontrole-agarplate dui daarop dat die verskillende toetsstamme wel mutagenisiteit kan identifiseer en dat die S9 korrek funksioneer.

In die geval van fluoroamien sal daar 'n groot aantal kolonies rondom die kol vorm. By natriumasied sal die

grootste deel van die plaat geen kolonies hê nie as gevolg van toksisiteit (biosied) met 'n groot aantal terugslaankolonies buite hierdie toksiese area.

3.5.2.3. Metaalteenwoordigheid

Die Metaalindikatortoets (Metlerkamp, 1986) is gebruik om die teenwoordigheid van metaalverbindinge te bevestig. Die supernatant is onverdund ($[1/1]$) gebruik. Matige hardewater is as kontrole gebruik omdat dit die vloeistof is wat gebruik is om die gedroogte logings te herhidreer.

Die toets is in triplikaat uitgevoer in Nunclon F96 Microwell mikrobakkies. 'n Hoeveelheid van 200 μ l van die toetsvloeistof is gevoeg by 50 μ l ensiem* (0,5 mg/ml) waarna 'n inkubasieperiode van 30 minute by 20°C volg. Na die inkubasieperiode is gelyke hoeveelhede (50 μ l) ureum en fenolftaleïen opeenvolgend by dié oplossing gevoeg.

Die interaksie wat plaasvind tussen die ensiem en die ureum produseer ammoniak. Ammoniak kleur die suur/basis-indikator (fenolftaleïen) pienk. Metaalverbindinge inhibeer die reaksie tussen ureum en die ensiem en geen of min ammoniak word gevorm wat met die indikator kan reageer en gevolglik bly die oplossing kleurloos. Die intensiteit van die kleurreaksie word kwantitatief (spektrofotometer) of kwalitatief (oë) bepaal na 'n tydperk van 15 minute (Slabbert et al., 1992 en Metlerkamp, 1986).

Die resultate verkry is gebruik om die persentasie inhibisie te bereken deur gebruik te maak van die

*Naam van die ensiem is geklassifiseer; vir verdere besonderhede kontak Me. L Slabbert - WATERTEK - WNNR.

volgende formule:

$$\%IA = 100 - (W/Gem \times 100)$$

waar $\%IA$ = persentasie inhibisie of addisie;

W = intensiteit van kleurreaksie; en

Gem = gemiddelde intensiteit van die
kontrole

3.6. Statistiese verwerkings

3.6.1. Daphniatoets

Die BMDP-statistiekprogram is gebruik om die drierigting-logliniêremodelpassing te bepaal waar effek (aantal dood), tipe vliegasing (suiwer logingsvloei-stof, Kendal, Lethabo of Matimba) en verdunningsterkte ($[1/2]$, $[1/4]$ of $[1/8]$) as variante gebruik is vir elk van die logingsvloei-stowwe (fisiologiese natriumchloried-oplossing, soutsuur of gesimuleerde surfaktant). Die betekenisvolle vlak word geneem as > 2 of < -2 vir die drierigting-logliniêremodelpassing (Steyn et al., 1989).

Waar daar nie suksesvolle passing van die drierigting-logliniêremodelle was nie, is van die chikwadraattoets op 'n tweerigtingtabel gebruik gemaak. 'n P-waarde kleiner as 0,05 word as betekenisvol beskou.

3.6.2. Metaalindikatortoets

Die BMDP-statistiekprogram is gebruik om die gemiddelde waarde en standaardafwyking van die verskillende logingsvloei-stowwe, die gemiddelde waarde en standaardafwyking van die kontrole en die korrelasie tussen die logingsvloei-stof en die kontrole, te bereken.

Die gemiddelde persentasie inhibisie vir elk van die logingsvloei-stowwe is bereken.

Die standaardafwyking is bereken deur van die onderstaande formule (Kendall & Stuart, 1969) gebruik te maak:

$$\text{Standaardafwyking} = \sqrt{\text{Var (Gem a/Gem b)}}$$

$$\text{Var (Gem a / Gem b)} = \left[\frac{\text{Gem a}}{\text{Gem b}} \right]^2 \frac{(S a)^2}{n(\text{Gem a})^2} + \frac{(S b)^2}{n(\text{Gem b})^2} - \frac{2(r)(S a)(S b)}{n(\text{Gem a})(\text{Gem b})}$$

Waar

Var = Variansie
 Gem = Gemiddeld
 a = Gemiddelde waarde van toetslogging
 b = Gemiddelde waarde van kontrole
 S = Standaardafwyking
 r = Korrelasiefaktor tussen a en b
 n = Grootte van populasie

'n Vertrouensinterval van 95% geld as die persentasie inhibisie bereken twee keer die standaardafwyking is.

'n Statistiese verskuiwing is gedoen indien 'n additiewe effek voorkom. Die waarde van die suiwer oplossing van die spesifieke logingsvloeistof is as nul geneem (die verskil tussen die werklike waarde en nul is bereken). Die waardes van die res van die resultate verkry vir daardie spesifieke logingsvloeistof is dienooreenkomstig aangepas.

HOOFSTUK 4

RESULTATE

4.1. Vliegasmorfologie

4.1.1. Vliegaspartikeldeursnee

Die mediane deursnee (Tabel 4.1.) van die grootste persentasie van vliegaspotikels afkomstig van die drie kragstasies is kleiner as 10 μm na die fraksioneringsproses. Al die vliegaspotikels gebruik, is inasembaar (< 50 μm) en die meerderheid is respireerbaar (< 10 μm).

Bron van vliegass	Mediane partikel-deursnee	% Partikels < 10 μm	% Partikels < 50 μm
Kendal	9,06 μm	56,5%	100%
Lethabo	7,20 μm	70,0%	100%
Matimba	7,46 μm	70,0%	100%

Tabel 4.1. Partikeldeursnee van die vliegassmonsters geëvalueer.

Na sentrifugasie van die vliegass/logingsvloei-stof-suspensie is opgemerk dat die vliegasspotikels in die onderpunt van die sentrifugeerbuis neergelê is in lae van verskillende kleure wat gewissel het van lig grys tot swart. Die oorgang tussen die verskillende lae was goed gedefinieerd gewees. Die dikte van die lae was ook verskillend van mekaar.

4.1.2. Kwartsinhoud

Die kwartsinhoud van die gefraksioneerde Kendal- en die Lethabovliegassmonster (Tabel 4.2.) is kleiner as 2%. Die kwartsinhoud van die gefraksioneerde Matimbavliegassmonster is ongeveer 4%.

Bron van vliegass	% Kwarts (m/m)
Kendal	< 2%
Lethabo	< 2%
Matimba	± 4%

Tabel 4.2. Kwartsinhoud van die vliegassmonsters geëvalueer.

4.1.3. Chemiese samestelling

Die oksiedsamestelling van die verskillende vliegassmonsters geëvalueer, uitgedruk as persentasie van die totale samestelling, word gegee in Tabel 4.3.

Verbinding	Kendal	Lethabo	Matimba
Al_2O_3	32,03 %	33,70 %	23,03 %
CaO	4,56 %	4,47 %	2,59 %
Fe_2O_3	7,03 %	3,98 %	9,03 %
K_2O	0,84 %	0,58 %	1,12 %
MgO	1,69 %	1,33 %	1,05 %
Na_2O	0,17 %	0,23 %	0,10 %
P_2O_5	0,99 %	0,62 %	0,34 %
SiO_2	48,11 %	51,59 %	57,84 %
TiO_2	1,74 %	1,69 %	1,06 %

Tabel 4.3. Oksiedsamestelling, uitgedruk as persentasie van die totale samestelling, van die vliegassmonsters geëvalueer.

Die verbindings Al_2O_3 (23-34%) en SiO_2 (48-58%) verteenwoordig die grootste persentasie van die totale oksiedsamestelling. Die tweede grootste groep oksiedverbinding sluit in CaO (2,6-4,6%) en Fe_2O_3 (4-9%). Die res van die oksiedverbinding verteenwoordig almal minder as 2% van die totale oksiedsamestelling.

Die spoorelemente in die verskillende vliegassmonsters geëvalueer, uitgedruk in dele per miljoen, word gegee in Tabel 4.4.

	Kendal	Lethabo	Matimba
Arseen	19	19	42
Barium	1 655	1 021	809
Bismut	5,0	4,9	3,7
Broom	< 0,9	< 0,8	< 0,9
Chroom	187	290	189
Gallium	61	53	62
Germanium	6,8	3,4	6,0
Kobalt	33	26	54
Koper	49	52	49
Lantaan	115	95	81
Lood	62	85	97
Mangaan	282	285	841
Molibdeen	13	7,5	17
Neodimium	105	85	85
Nikkel	64	80	62
Niobium	38	32	26
Rubidium	43	31	64
Seleen	2,4	3,0	1,9
Serium	261	212	174
Sink	57	81	238
Sirkonium	360	337	327
Skandium	36	41	30
Stronsium	1 273	801	236
Torium	37	34	22
Uraan	8,2	8,9	11
Vanadium	151	194	237
Wolfram	13	11	15
Yttrium	62	57	54

Tabel 4.4. Spoorelemente aangetoon in d.p.m. van die vliegasmonters geëvalueer.

Die konsentrasie broom, koper en wolfram in die vliegasmonters afkomstig uit die verskillende kragstasies is min of meer in dieselfde verhouding.

Kendalvliegasmonters bevat meer barium, bismut, germanium, lantaan, neodimium, niobium, serium, sirkonium, stronsium, torium en yttrium as Lethabo- en Matimbavliegasmonters.

Lethabovliegasmonters bevat meer chroom, nikkel, seleen en skandium as Kendal- en Matimbavliegasmonters.

Matimbavliegas bevat meer arseen, gallium, kobalt, lood, mangaan, molibdeen, rubidium, sink; uraan en vanadium as Kendal- en Lethabovliegas.

4.2. Logging

4.2.1. Chemiese samestelling van die supernatant

Die chemiese samestelling van supernatant afkomstig van die verskillende vliegaslogings word uitgedruk in dele per miljoen (d.p.m.).

Die konsentrasie in d.p.m. van koper (< 0,1), lood (< 1,0), mangaan (< 0,1), molibdeen (< 0,2), nikkel (< 0,3), sink (< 0,5), sirkonium (< 0,1), skandium (< 1,0) en yttrium (< 0,3) is kleiner of gelyk aan die bepaalbaarheidslimiet van die Jarrell-Ash Atom Scan 2400 IGP AES-spektrofotometer. Dit beteken dat daar geen of baie min koper, lood, mangaan, molibdeen, nikkel, sink, sirkonium, skandium en yttrium vrygekom het tydens die logingsprosedure ongeag die logingsvloeistof wat gebruik is.

Waar **fisiologiese natriumchloriedoplossing** as logingsvloeistof gebruik is (Tabel 4.5), is aluminium, kalium, kalsium, magnesium, natrium en yster geloog; geen fosfor en titaan is geloog uit enige van die vliegasmonsters nie. Meer aluminium is geloog uit Kendal- en Lethabovliegas as uit Matimbavliegas. Yster is slegs uit Matimbavliegas geloog.

**	Al	Ca	Fe	K	Mg	Na	P	Ti
NaCl	< 0,1	24	0,8	1,2	7,2	760	< 1,0	< 0,1
Kendal	8,0	120	0,8	2,0	8,0	800	< 1,0	< 0,1
Lethabo	8,0	100	0,8	3,2	8,4	800	< 1,0	< 0,1
Matimba	4,0	110	1,2	2,4	9,6	840	< 1,0	< 0,1

Tabel 4.5. Chemiese samestelling in d.p.m. van fisiologiese natriumchloriedloging.

In die geval van **soutsuur** as logingsvloeistof (Tabel 4.6), is aluminium, fosfor, kalium, kalsium, magnesium, natrium, titaan en yster geloog. Meer aluminium is egter geloog uit Kendal- en Lethabovliegas as uit Matimbavliegas.

**	Al	Ca	Fe	K	Mg	Na	P	Ti
HCl	< 0,1	34	1,2	1,2	6,8	4,0	< 1,0	< 0,1
Kendal	140,0	340	20,0	3,2	52,0	6,0	40	4,0
Lethabo	120,0	410	12,0	2,8	112,0	8,0	48	2,8
Matimba	48,0	320	16,0	2,8	80,0	6,0	44	4,0

Tabel 4.6. Chemiese samestelling in d.p.m. van soutsuurloging.

Aluminium, fosfor, kalium, kalsium, magnesium, natrium en yster is geloog waar **gesimuleerde surfaktant** as logingsvloeistof gebruik is (Tabel 4.7). Geen titaan het geloog nie. Aluminium is geloog uit Kendal- en Lethabovliegas terwyl daar by Matimbavliegas geen loging was nie. Yster is slegs geloog in die geval van Lethabovliegas.

** Al = aluminium, Ca = kalsium, Fe = yster, K = kalium, Mg = magnesium, Na = natrium, P = fosfor en Ti = titaan.

**	Al	Ca	Fe	K	Mg	Na	P	Ti
Surf	< 0,1	96	0,8	64	15	620	32	< 0,1
Kendal	4,0	130	0,8	170	16	650	48	< 0,1
Lethabo	7,0	190	1,3	130	31	680	60	< 0,1
Matimba	< 0,1	200	0,8	180	40	760	36	< 0,1

Tabel 4.7. Chemiese samestelling in d.p.m. van gesimuleerde surfaktantlogging.

4.2.2. Daphniatoets

4.2.2.1. Siftingstoets

Die siftingstoets is gebruik om die toksiese reikwydte vir elk van die logings te bepaal.

Die letaliteit by die 9 kontroles van matige hardewater in die siftingstoets, was almal kleiner of gelyk aan 10%. Hierdie vlak (10% letaliteit) word geneem as die effekvlak, met ander woorde, as die letaliteit hoër is as 10%, is die letaliteit nie toe te skryf aan die eksperimentele prosedure nie maar aan die vloeistof wat geëvalueer is.

Die letaliteit verkry gedurende die siftingstoets vir die verskillende verdunningskonsentrasies word vervat in Tabel 4.8., 4.9. en 4.10.

	[¹ / ₁₀]	[¹ / ₁₀₀]	[¹ / ₁₀₀₀]
	Letaliteit	Letaliteit	Letaliteit
NaCl	0%	0%	0%
Kendal	0%	5%	0%
Lethabo	5%	0%	0%
Matimba	5%	5%	0%

Tabel 4.8. Letaliteit tydens die siftingstoets vir fisiologiese natriumchloriedoplossing.

** Al = aluminium, Ca = kalsium, Fe = yster, K = kalium, Mg = magnesium, Na = natrium, P = fosfor en Ti = titaan.

	$[1/_{10}]$	$[1/_{100}]$	$[1/_{1000}]$
	Letaliteit	Letaliteit	Letaliteit
HCl	5%	0%	0%
Kendal	20%	0%	0%
Lethabo	5%	0%	0%
Matimba	5%	0%	0%

Tabel 4.9. Letaliteit tydens die siftingstoets vir soutsuur.

	$[1/_{10}]$	$[1/_{100}]$	$[1/_{1000}]$
	Letaliteit	Letaliteit	Letaliteit
Surf	0%	0%	0%
Kendal	5%	0%	0%
Lethabo	0%	0%	0%
Matimba	0%	0%	0%

Tabel 4.10. Letaliteit tydens die siftingstoets vir gesimuleerde surfaktant.

In die siftingstoets is die letaliteit deurgaans kleiner as die effekvlak (Tabel 4.8., 4.9, en 4.10.) behalwe in die geval van Kendalvliegse se soutsuuroplossing by $[1/_{10}]$ waar die letaliteit 20% is.

4.2.2.2. Definiteitstoets

Vir die definiteitstoets word serieverduunnings van die verskillende logingsvloei-stowwe gemaak tussen $[1/_{1}]$ en $[1/_{10}]$ wat as reikwydte bepaal is volgens die resultate in die siftingstoets. Die verdunnings gebruik in die definiteitstoets sal dus wees $[1/_{1}]$, $[1/_{2}]$, $[1/_{4}]$ en $[1/_{8}]$.

Die resultate verkry gedurende die definiteitstoets word gegee in Tabel 4.11, 4.12 en 4.13.

In die geval van suiwer fisiologiese natriumchloried-oplossing (Tabel 4.11) en gesimuleerde surfaktant (Tabel 4.13) is al die organismes dood by $[1/_{1}]$. Daarteenoor is die letaliteit van die soutsuuroplossing (Tabel 4.12) by $[1/_{1}]$ gelyk aan die effekvlak.

	$[1/1]$	$[1/2]$	$[1/4]$	$[1/8]$
	Letaliteit	Letaliteit	Letaliteit	Letaliteit
NaCl	100%	10%	10%	0%
Kendal	100%	100%	50%	40%
Lethabo	100%	100%	20%	20%
Matimba	100%	100%	20%	5%

Tabel 4.11. Letaliteit tydens die definiteitstoets vir fisiologiese natriumchloried-oplossing.

	$[1/1]$	$[1/2]$	$[1/4]$	$[1/8]$
	Letaliteit	Letaliteit	Letaliteit	Letaliteit
HCl	10%	10%	0%	0%
Kendal	100%	100%	100%	100%
Lethabo	100%	100%	95%	5%
Matimba	100%	100%	85%	10%

Tabel 4.12. Letaliteit tydens die definiteitstoets vir soutsuur.

	$[1/1]$	$[1/2]$	$[1/4]$	$[1/8]$
	Letaliteit	Letaliteit	Letaliteit	Letaliteit
Surf	100%	10%	10%	0%
Kendal	100%	30%	0%	0%
Lethabo	100%	70%	20%	0%
Matimba	100%	60%	15%	0%

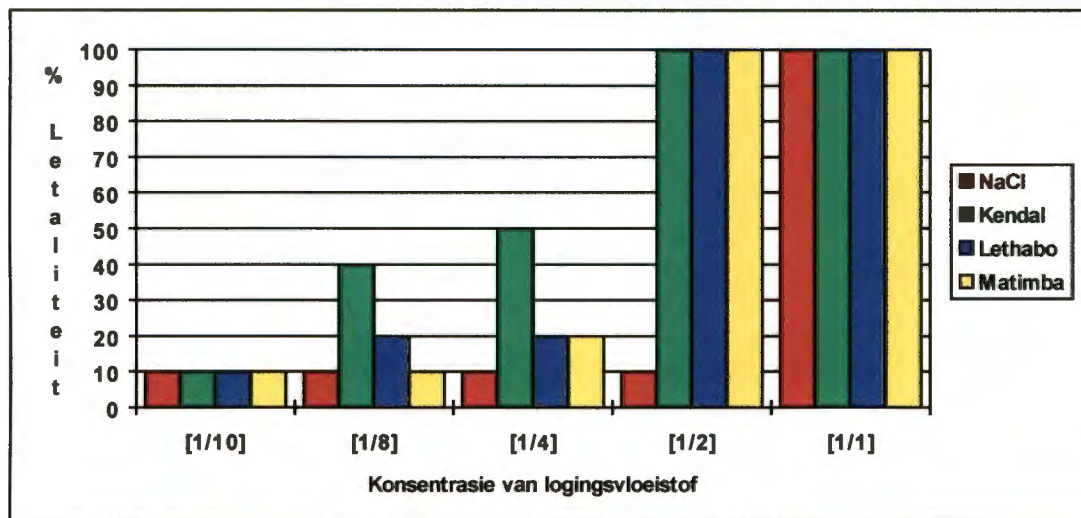
Tabel 4.13. Letaliteit tydens die definiteitstoets vir gesimuleerde surfaktant.

By $[1/2]$ is die letaliteit vir al die suiwer logings-vloeistowwe gelyk aan die effekvlak en kan letaliteit by hierdie konsentrasie wat groter is as die effekvlak, toegeskryf word aan verbindings wat geloog is in die logingsvloeistowwe en nie aan die logingsvloeistowwe self nie.

Die resultate in Tabel 4.11, 4.12 en 4.13 word grafies voorgestel in Figure 4.1 tot 4.3 grafies gegee.

Waar **fisiologiese natriumchloriedoplossing** as logings-vloeistof gebruik is, is die chikwadratstoets tydens die

statistiese analyses toegepas omdat geen drierigting-logliniêremodelpassing verkry kon word nie.



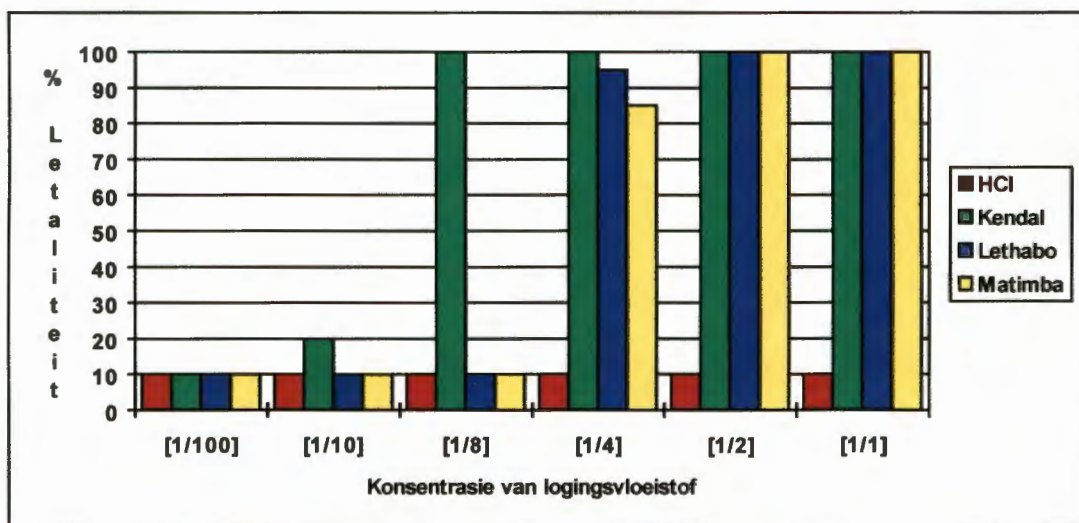
Figuur 4.1. Resultate (Tabel 4.8 en 4.11) van die *Daphnia*toets uitgevoer met fisiologiese natriumchloriedoplossing.

Uit Figuur 4.1 is dit duidelik dat daar 'n 100% letaliteit is by $[1/2]$ in die geval van al die vliegasmonters. By $[1/4]$ is daar 'n 50% letaliteit ten opsigte van Kendalvliegasmonters en 'n 20% letaliteit by Lethabo- en Matimbavliegasmonters. Die letaliteit by $[1/8]$ is 40% in die geval van Kendalvliegasmonters en 20% ten opsigte van Lethabovliegasmonters. Bogenoemde resultate verskil almal betekenisvol ($P < 0,05$) van die letaliteit verkry met die suiwer oplosvloeistof. Die letaliteit in die geval van Matimbavliegasmonters by $[1/8]$ is onder die effekvlak.

Waar **soutsuur** as logingsvloeistof gebruik is, kon geen drierigting-logliniêremodelpassing insgelyks verkry word nie en is die chikwadraattoets weer eens tydens statistiese analyses gebruik.

Volgens Figuur 4.2 is daar 'n letaliteit van 100% by $[1/1]$ en $[1/2]$ ongeag die vliegasmonters gebruik. By Kendalvliegasmonters is die letaliteit ook 100% by $[1/4]$ en $[1/8]$.

In die geval van Lethabovliegias is daar 'n 95% letaliteit en ten opsigte van Matimbavliegias 'n 85% letaliteit by $[1/4]$. Al bogenoemde resultate verskil betekenisvol ($P < 0,05$) van die letaliteit veroorsaak deur die suiwer oplossing. Die letaliteit by $[1/8]$ ten opsigte van beide die Lethabo- en die Matimbavliegias-monster is onder of gelyk aan die effekvlak.

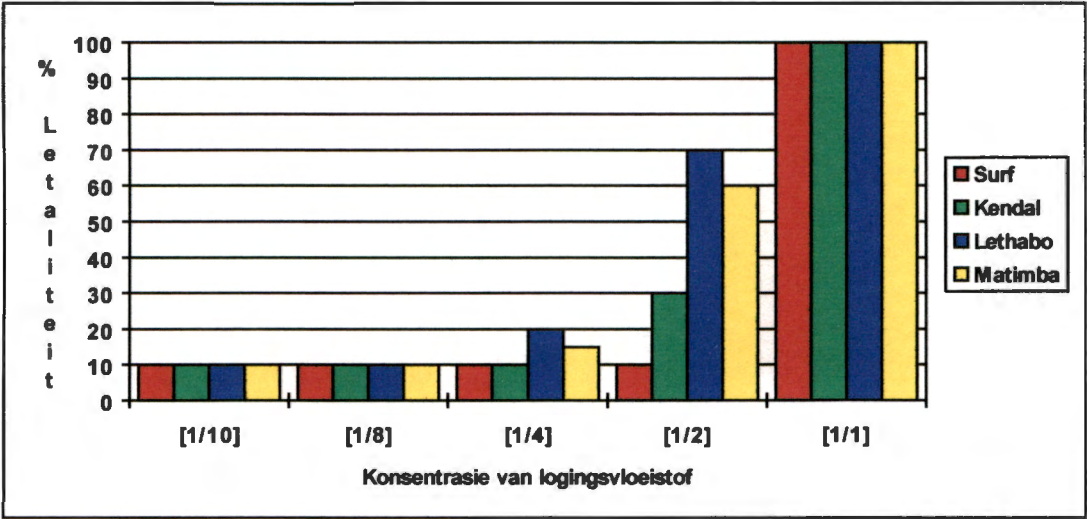


Figuur 4.2. Resultate (Tabel 4.9 en 4.12) van die *Daphniatoets* uitgevoer met soutsuur.

'n Drierigting-logliniêremodelpassing kon wel verkry word in die geval waar **gesimuleerde surfaktant** as logingsvloeistof gebruik is.

Uit Figuur 4.3 is dit duidelik dat daar by $[1/2]$ 'n 30% letaliteit in die geval van Kendal-, 'n 70% letaliteit by Lethabo- en 'n 60% letaliteit by Matimbavliegias is. Hierdie resultate verskil betekenisvol van die resultate verkry met die suiwer oplossing. In die geval van $[1/4]$ is daar 'n 20% letaliteit by Lethabo- en 'n 15% letaliteit ten opsigte van Matimbavliegias. Die letaliteit in die geval van Kendalvliegias by $[1/4]$ is kleiner as die effekvlak. Die letaliteit by $[1/8]$ van al die vliegiasmonsters is onder die effekvlak. Die

logliniêremodelpassing toon dat die resultate verkry met die verskillende vliegasmonteure by $[1/2]$ betekenisvol van mekaar verskil. Kendalvliegase resultate verskil ook betekenisvol van die ander twee vliegasmonteure by $[1/4]$.



Figuur 4.3. Resultate (Tabel 4.10 en 4.13) van die *Daphnia*-toets uitgevoer met gesimuleerde surfaktant.

4.2.3. Amestoets

Die positiewe kontroleplate gebruik vir die TA98-toetsstam met S9 en die TA100-toetsstam sonder S9, was beide positief gewees omdat daar groot hoeveelhede terugslaankolonies soortgelyk aan die patroon beskryf deur Maron & Ames (1983), op die plate gevorm het.

Geen van die steriliteitskontroleplate het enige formasie van bakteriële kolonies getoon nie en dus was daar geen kontaminasie van die plate nie.

Die uitslag van die agarplate waarop die twaalf logings geëvalueer was, was negatief (gelyk aan die agtergrond) vir die TA98- en die TA100-toetsstam met of sonder die byvoeging van die S9 omdat daar geen terugslaankolonies

gevorm het rondom die druppel van die logging wat op die agarplaat gedrup is nie.

4.2.4. Metaalindikatortoets

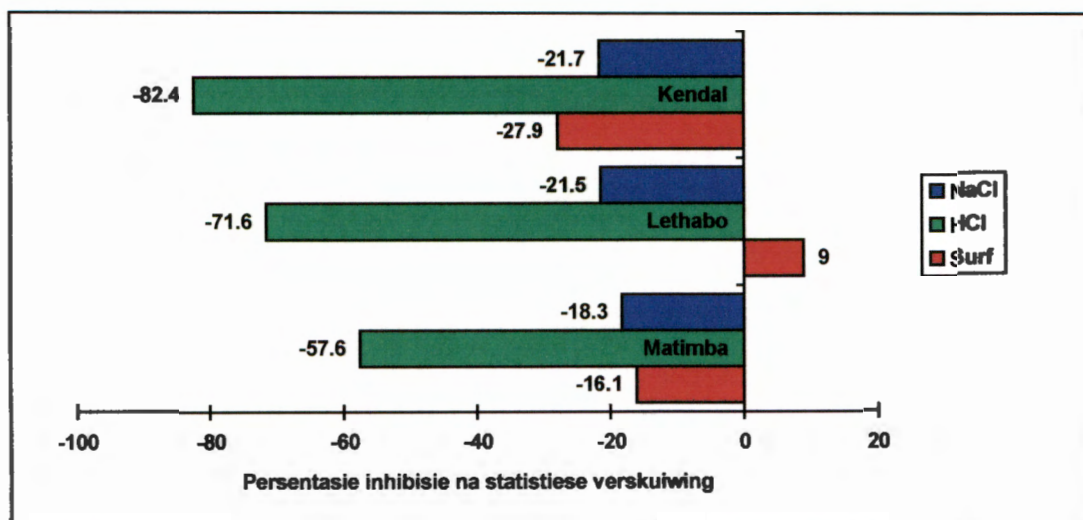
Die persentasie inhibisie (verminderde ammoniakproduksie) word aangedui deur 'n minusteken (-) en persentasie addisie (vermeerderde ammoniakproduksie) deur 'n plusteken (+). 'n Statistiese verskuiwing is gedoen. Die berekende gemiddelde persentasie inhibisie en die waardes na 'n statistiese verskuiwing met die standaardafwyking word gegee in Tabel 4.14.

	Persentasie inhibisie of addisie	Waardes na statistiese verskuiwing
NaCl	+ 22,4	0,0 ± 3,8
Kendal	+ 0,7	- 21,7 ± 2,8
Lethabo	+ 0,9	- 21,5 ± 3,1
Matimba	+ 4,1	- 18,3 ± 2,9
HCl	+ 53,1	0,0 ± 3,6
Kendal	- 29,3	- 82,4 ± 1,2
Lethabo	- 18,5	- 71,6 ± 3,5
Matimba	- 4,5	- 57,6 ± 2,9
Surf	+ 53,2	0,0 ± 2,1
Kendal	+ 25,3	- 27,9 ± 0,9
Lethabo	+ 62,2	+ 9,0 ± 2,0
Matimba	+ 37,1	- 16,1 ± 1,8

Tabel 4.14. Resultate van die Metaalindikatortoets op die onverdunde ($[1/1]$) logingsvloei-stowwe.

Die resultate na die statistiese verskuiwing soos vervat in Tabel 4.14, word grafies voorgestel in Figuur 4.4.

Die chemiese verbindings teenwoordig in die suiwer logingsvloei-stowwe veroorsaak dat die ammoniakproduksie van die ensiem verhoog is. 'n Statistiese verskuiwing is dus gedoen om die nulpunt van elke logingsvloei-stof daar te stel.



Figuur 4.4. Persentasie inhibisie bewerkstellig deur die verskillende logingsvloei-stowwe in die verskillende vliegasmonsters.

Inhibisie kom voor by al die vliegaslogings behalwe in die geval van Lethabovliegas waar gesimuleerde surfaktant gebruik is as logingsvloei-stof.

As die resultate van die logingsvloei-stowwe verkry tydens die Metaalindikatortoets met mekaar vergelyk word, is dit duidelik dat soutsuurlogings die meeste inhibisie veroorsaak.

Die meeste inhibisie kom voor in die geval van Kendalvliegas ongeag die logingsvloei-stof gebruik.

Die persentasie inhibisie bereken is deurlopend twee keer groter as die standaardafwyking. Die resultate val dus in die 95% vertrouwensinterval.

HOOFTUK 5

BESPREKING

5.1. Vliegasmorfologie

5.1.1. Vliegasparkikeldeursnee

Die vliegasparkikels verkry tydens die fraksioneringsproses is kleiner as 50 μm en dus inasembaar (Tabel 4.1). Tussen 56,5% en 70% van die vliegasparkikels is klein genoeg om as respireerbaar ($< 10 \mu\text{m}$) beskou te word.

Alles in ag geneem, was die fraksioneringsproses geslaagd.

Die feit dat nie al die vliegasparkikels kleiner as 10 μm is nie, kan moontlik toegeskryf word aan die sameklompings van parkikels om 'n konglomeraat te vorm met 'n deursnee groter as 10 μm .

Die mediane deursnee van 8 μm ten opsigte van Lethabovliegasparkikels soos gebruik deur Bosch & Willis (1990), is groter as die mediane deursnee van die gefraksioneerde Lethabovliegass (7,20 μm) gebruik in hierdie studie (Tabel 4.1).

Met sedimentering van die vliegasparkikels tydens die ultrasentrifugeringsproses is vliegasparkikels gerangskik in gekleurde kringe wat duidelik van mekaar onderskei kon word.

5.1.2. Kwartsinhoud

Volgens 'n studie van Boshoff et al. (1991) het die as (in laboratorium voorberei) van die Kendal- en die Lethabokragstasie se steenkool 'n kwartsinhoud van 14,7% terwyl die as van Matimbakragstasie se steenkool 'n kwartsinhoud van 32,0% het. Die tendens dat die Kendal- en die Lethabokragstasie se as minder kwarts bevat as Matimbakragstasie se as, word bevestig deur resultate

verkry in hierdie studie met vliegas (Tabel 4.2). Die kwartsinhoud van die gefraksioneerde vliegas van die Kendal- en die Lethabokragstasie is minder as 2% terwyl die kwartsinhoud van die gefraksioneerde Matimbavliegas ongeveer 4% is.

Die moontlikheid bestaan dus dat die grootste hoeveelheid kwarts voorkom in die partikelfraksie groter as $10\text{ }\mu\text{m}$ (die nie-respireerbare fraksie).

5.1.3. Chemiese samestelling

Die oksiede Al_2O_3 en SiO_2 verteenwoordig die grootste persentasie van die oksiedsamestelling van die vliegas (Tabel 4.3). Daarenteen verteenwoordig CaO en Fe_2O_3 meer as 2% van die oksiedsamestelling terwyl die res van die oksiede minder as 2% uitmaak. Resultate van Boshoff et al. (1991) en Bosch & Willis (1990) bevestig hierdie tendens.

Bosch & Willis (1990) maak gebruik van Lethabopresipitatorvliegas in hulle studie (Tabel 2.2). Die resultate verkry met gefraksioneerde Lethabovliegas (Tabel 4.4) toon dat slegs molibdeen in min of meer dieselfde konsentrasie voorkom as die presipitatorvliegas gebruik deur Bosch & Willis (1990). Met uitsondering van chroom kom die res van die spoorelemente in kleiner konsentrasies voor in gefraksioneerde Lethabovliegas as in Lethabokragstasie se presipitatorvliegas.

Die verskil in spoorelementinhoud aangetoon met die vergelyking van die verskillende gefraksioneerde vliegasmonsters, kan moontlik toegeskryf word aan die verskil in chemiese komposisie en die kwaliteit van die steenkool wat verbrand word in die verskillende kragstasies.

Die vliegas van die verskillende kragstasies bevat bismut, broom, gallium, koper, seleen, uraan, wolfram en

yttrium in min of meer dieselfde verhouding ten opsigte van die genoemde elemente (Tabel 4.4). Dit wil dus voorkom of die hoeveelhede van hierdie elemente nagenoeg in dieselfde mate voorkom in die steenkool wat in die verskillende kragstasies verbrand word.

Die chemiese komposisie van die steenkool verbrand (Tabel 4.4) verskil egter van mekaar omdat Kendalvliegass meer barium, germanium, lantaan, neodimium, niobium, serium, sirkonium, stronsium en torium bevat as Lethaboven Matimbavliegass. Lethabovliegass bevat meer chroom, nikkel en skandium as Kendal- en Matimbavliegass. Matimbavliegass daarenteen bevat meer arseen, kobalt, lood, mangaan, molibdeen, rubidium, sink en vanadium as Kendal- en Lethabovliegass.

Die gesondheidsgevaar wat vliegasspartikels mag inhou, word beïnvloed deur die kwaliteit en chemiese komposisie van die steenkool verbrand. Die potensiale gesondheidsgevaar van vliegass afkomstig van elke kragstasie sal dus afsonderlik bepaal moet word.

5.2. Logging

Dit wil voorkom of daar geen of baie min koper, lood, mangaan, molibdeen, nikkel, sink, sirkonium, skandium en yttrium geloog het tydens die logingsprosedure, ongeag die logingsvloeistof wat gebruik is. Die tendens kan moontlik toegeskryf word aan 'n onvoldoende logingstydperk, dat die elemente diep in die aluminosilikaatdop ingebed is en nie geloog kon word nie en/of dat die logingsvloeistof gebruik nie in staat was om die aluminosilikaatdop suksesvol op te los nie.

Waar fisiologiese natriumchloriedoplossing gebruik is as logingsvloeistof is aluminium, kalium, kalsium, magnesium, natrium en yster geloog. Hierdie elemente is

volgens Fisher et al. (1976) en Mason (1966) litofilies en word geassosieer met die aluminosilikaatdop.

Geen fosfor en titaan is geloog uit die drie vliegasmasters waar fisiologiese natriumchloriedoplossing gebruik is as logingsvloeistof nie. Titaan word ook geassosieer met die aluminosilikaatdop. Dit is dus duidelik dat fisiologiese natriumchloriedoplossing as logingsvloeistof slegs in staat was om 'n klein fraksie van die hele aluminosilikaatdop, heel moontlik slegs die reaktiewe buitenste laag, op te los tydens die loggingstydperk gebruik in hierdie studie.

Aluminium is meer suksesvol geloog uit Kendal- en Lethabovliegas as uit Matimbavliegas. Dit is dus moontlik dat Kendal- en Lethabovliegas makliker chemiese verbindings vrystel as Matimbavliegas tydens kontak met 'n vloeistof.

Yster is suksesvol geloog uit Matimbavliegas maar nie uit die ander twee monsters nie. Dit kan moontlik toegeskryf word aan die feit dat meer Fe_2O_3 voorkom in Matimbavliegas as in Kendal- of Lethabovliegas.

Waar soutsuur gebruik is as logingsvloeistof, is aluminium suksesvol geloog. Meer aluminium is egter vrygestel uit Kendal- en Lethabovliegas as uit Matimbavliegas. Dit kan moontlik toegeskryf word aan die feit dat meer Al_2O_3 voorkom in Kendal- en Lethabovliegas as in Matimbavliegas.

Fosfor, kalium, kalsium, magnesium, natrium, titaan en yster is geloog in die geval van al drie vliegasmasters waar soutsuur as logingsvloeistof gebruik is. Genoemde elemente is volgens Fisher et al. (1976) en Mason (1966) litofilies en is geassosieer met die aluminosilikaatdop.

Soutsuur was dus in staat om van die aluminosilikaatdop op te los.

Waar gesimuleerde surfaktant gebruik is as logingsvloeistof is aluminium geloog by Kendal- en Lethabovliegass terwyl Matimbavliegass geen aluminium vrygestel het nie. Dit kan toegeskryf word aan die feit dat Kendal- en Lethabovliegass meer Al_2O_3 as Matimbavliegass bevat en dat die gesimuleerde surfaktant slegs in staat was om 'n baie klein fraksie van die buitenste reaktiewe aluminosilikaatdop, soos beskryf deur Haynes et al. (1982) en Smith (1980), op te los.

Fosfor, kalium, kalsium, magnesium, natrium en yster is geloog in die logingsproses waar gesimuleerde surfaktant as logingsvloeistof gebruik is. Geen titaan is geloog nie. Die resultate (Tabel 4.10 en 4.13) bevestig dat gesimuleerde surfaktant beskou kan word as 'n swak logingsvloeistof.

Dit wil dus voorkom of al drie die gekose logingsvloeistowwe wel in staat was om die aluminosilikaatdop gedeeltelik op te los. Soutsuur was egter in staat om meer van die aluminosilikaatdop op te los as die ander twee stowwe en kan dus beskou word as die beste logingsvloeistof gebruik in hierdie studie, gevolg deur fisiologiese natriumchloriedoplossing en gesimuleerde surfaktant. Dit kan dus gepostuleer word dat meer logging in die maag sal plaasvind nadat die vliegass ingesluk is as wanneer dit ingeasem is en/of in kontak kom met mukus en/of longsurfaktant.

Daar moet egter in gedagte gehou word dat die voorkoms van arseen, barium, bismut, broom, chroom, gallium, germanium, kobalt, lantaan, neodimium, niobium, rubidium, seleen, serium, stronsium, torium, uraan, vanadium, en wolfram nie bepaal is in die liggaamsvloeistowwe nie.

Die moontlikheid bestaan dus dat van die genoemde elemente wel in die verskillende logings kan voorkom en 'n invloed kan hê op die toksiese potensiaal van die vliegaspertikels.

In die geheel gesien wil dit voorkom of Kendal- en Lethabovliegass makliker aluminium loog as Matimbavliegass.

Aangesien kalium, kalsium, magnesium, natrium en yster voorkom in van die suiwer logingsvloeiwater, moes die gedistilleerde water gebruik om die gedehidreerde supernatant van die verskillende logingsvloeiwater te hidreer, dus dié elemente bevat het.

5.2.1. *Daphnia*toets

Die miniaturisasieprosedure gebruik tydens die *Daphnia*toets was suksesvol omdat die letaliteit van die eksperimentkontroles (9 by die siftingstoets en 12 by die definiteitstoets) van matige hardewater wat gebruik is, kleiner as of gelyk aan die effekvlak van 10% was.

In die siftingstoets was die letaliteit by die drie verdunningskonsentrasies getoets almal kleiner as die effekvlak, behalwe in die geval van Kendalvliegass se soutsuurloging by $[1/10]$ waar die letaliteit 20% was.

Die reikwydte vir die siftingstoets is dus vasgestel tussen $[1/10]$ en $[1/1]$.

In beide die siftings- en die definiteitstoets is suiwer logingsvloeiwater gebruik om te bepaal of dit enige nadelige effek op die *Daphnia pulex* sal hê. Waar suiwer fisiologiese natriumchloriedoplossing en suiwer gesimuleerde surfaktant gebruik is, is al die *Daphnia pulex* dood. Dit kan moontlik te wyte wees aan die hoë konsentrasie van natrium wat voorkom in die twee logingsvloeiwater. Waar suiwer soutsuur as logings-

vloeistof gebruik is, is die letaliteit gelyk aan die effekvlak. Uit die chemiese analises blyk dit dat daar baie min natrium voorkom in die suiwer soutsuuroplossing en dit versterk dus die moontlikheid dat hoë konsentrasies natrium die *Daphnia pulex* nadelig kan beïnvloed.

Daar kan geen waarde geheg word aan die resultate verkry met die vliegalogings van fisiologiese natriumchloriedoplossing en gesimuleerde surfaktant by $[1/1]$ nie omdat die *Daphnia pulex* se dood toegeskryf kan word aan die logingsvloeistof en nie aan die chemiese verbindings wat voorkom in die vliegalogings nie.

Die organismes se dood by $[1/1]$ in die geval van soutsuur kan toegeskryf word aan die stowwe wat vrygestel is tydens die logingsprosedure omdat die letaliteit van die suiwer soutsuuroplossing onder die effekvlak was.

In die geval van verdunnings $[1/2]$, $[1/4]$ en $[1/8]$ van al die logingsvloeiostowwe kan die letaliteit toegeskryf word aan die teenwoordigheid van toksiese stowwe in die vliegalogings, aangesien die logingsvloeiostowwe se effek kleiner as of gelyk aan die effekvlak van 10% was.

Oor die algemeen kan gesê word dat al die vliegamonsters versamel, wel 'n toksiese potensiaal het wat lei tot die afsterwe van die *Daphnia pulex*. Die toksiese potensiaal neem af namate die verdunningskonsentrasie verklein (Figuur 4.1, 4.2 en 4.3) omdat die elemente wat die letaliteit veroorsaak afneem.

In tabel 2.3 word aangetoon wat die 48-h LD₅₀ by die *Daphnia*toets van aluminium 3,9 dpm en yster 9,6 dpm is.

Die hoeveelheid aluminium geloog waar fisiologiese natriumchloriedoplossing (Tabel 4.5) gebruik is, oorskry by al die vliegamonsters dié vlak. Dieselfde kan gesê

word vir soutsuur (Tabel 4.6) en gesimuleerde surfaktant (Tabel 4.7) met die uitsondering van die Matimba vliegasmaanster by laasgenoemde.

Die soutsuurloging toon groter letaliteit as die fisiologiese natriumchloriedoplossing en die gesimuleerde surfaktantloging (Figuur 4.1, 4.2 en 4.3) wat daarop dui dat daar hoër konsentrasies toksiese stowwe in die soutsuurloging teenwoordig is. Hierdie afleiding word bevestig deur die resultate vervat in Tabel 4.5, 4.6 en 4.7, wat toon dat die soutsuurloging hoër konsentrasies chemiese verbindings bevat as die ander logingsvloei-stowwe.

Uit tabel 4.5, 4.6 en 4.7 is dit ook duidelik dat Matimbavliegasmaan die kleinste hoeveelheid aluminium lewer na die logingstydperk met die verskillende logingsvloei-stowwe.

Aluminium word ook in die grootste hoeveelheid geloog deur soutsuur. In die geval van Kendalvliegasmaan het soutsuur die grootste hoeveelhede aluminium geloog en dit kan moontlik die verklaring wees waarom dié vliegasmaan se soutsuurloging 'n groot toksiese potensiaal openbaar. Die hoeveelheid yster aangetoon in die resultate waar soutsuur (Tabel 4.6) as logingsvloei-stof gebruik is oorskry die vlak gestel in Tabel 2.3 vir die element.

Dit is dus waarskynlik hierdie twee elemente (aluminium en yster) wat die resultate verkry tydens die *Daphnia*-toets bepaal. Uit Tabel 2.3 is dit egter ook duidelik dat *Daphnia pulex* gevoelig is vir elemente soos koper, lood en nikkel wat wel aangetoon is op vliegasmaan (Tabel 4.4). Hierdie elemente kon egter nie in die logingsvloei-stowwe aangetoon word nie omdat die konsentrasie waarin hulle voorgekom het onder die bepalinglimiet van die analitiese metodes gebruik was (sien gedeelte 4.2.1.).

Dit wil verder voorkom of Kendalvlieg as chemiese verbindings geloog het wat 'n groter toksiese effek het as Lethabo- en Matimbavlieg as (Figuur 4.1 en 4.2) waar fisiologiese natriumchloriedoplossing en soutsuur as logingsvloei-stof gebruik is. In die geval van gesimuleerde surfaktant, is die letaliteit ten opsigte van Kendalvlieg as laer as by Lethabo- en Matimbavlieg as (Figuur 4.3).

In die geheel gesien, wil dit voorkom of Kendalvlieg as chemiese verbindings vrystel wat meer toksies is ten opsigte van al drie die logingsvloei-stowwe as Lethabo- en Matimbavlieg as.

Dié tendens kan moontlik toegeskryf word aan die feit dat Kendalvlieg as meer barium, germanium, lantaan, neodimium, niobium, serium, sirkonium, stronsium en torium bevat as Lethabo of Matimba se vlieg as.

Alhoewel die spesifieke toksiese element/e verantwoordelik vir die toksiese potensiaal van vlieg as nie bo alle twyfel vasgestel kon word nie, wil dit voorkom of aluminium en yster in 'n mindere mate 'n rol hierin mag speel.

5.2.2. Amestoets

In hierdie studie het die Amestoets geen positiewe resultate gelewer ten opsigte van enige van die logingsvloei-stowwe geëvalueer nie. Dit wil dus voorkom of daar geen verbinding geloog is wat 'n mutageniese potensiaal het nie en dat die eksperiment as sodanig suksesvol was omdat die positiewe kontroles gebruik wel positief geles het.

Hierdie resultate bevestig die bevindinge van Fisher et al. (1978), Kleinjans et al. (1989), Kubitscek & Venta (1979) wat ook gevind het dat vlieg as nie as

mutageen optree in die TA98- en die TA102-toetsstam (met of sonder S9 aktivering) nie nieteenstaande die feit dat die toetsmetodes verskil het.

Daar moet egter in gedagte gehou word dat die Amestoets nie gebruik kan word om metaalmutagene te bepaal nie (Glatz, 1979 en Leonard, 1988). Die Metaalindikatortoets het getoon dat daar metaalverbindings teenwoordig is in die logingsvloei-stowwe geëvalueer. Al wat dus gesê kan word is dat daar geen verbindings (organies of anorganies) geloog is wat mutagenisiteit in die TA98- of TA100-toetsstam kan veroorsaak nie. 'n Mutageniese toets bv. *Escherichia coli* WP2 en/of *Escherichia coli* WP3 uvrA moet dus in die toekoms gebruik word om die moontlikheid te ondersoek of die metaalverbindings geloog wel mutagenisiteit kan openbaar.

Kleinjans et al. (1989) bevind egter dat vliegaspertikels wel 'n mutageniese potensiaal toon wanneer van die TA97- en die TA100-toetsstam gebruik gemaak word. Die TA97- en die TA102-toetsstam kan moontlik in die toekoms saam met die TA98- en die TA100-toetsstam gebruik word wanneer die mutageniese potensiaal van vliegaspertikels bepaal word.

5.2.3. Metaalindikatortoets

Soutsuurlogings veroorsaak die meeste inhibisie gevolg deur fisiologiese natriumchloriedoplossing en gesimuleerde surfaktant. Dit word bevestig deur die feit dat elemente in groter konsentrasies geloog is waar soutsuur gebruik is as logingsvloei-stof, gevolg deur fisiologiese natriumchloriedoplossing en gesimuleerde surfaktant.

Kendalvliegass veroorsaak deurgaans die meeste inhibisie gevolg deur Lethabo- en Matimbavliegass behalwe in die geval van gesimuleerde surfaktant waar Matimbavliegass 'n

inhibisie en Lethabovlieg as 'n addisie veroorsaak. Dit wil dus lyk of daar net soos in die geval van die *Daphniatoets*, 'n groter effek is in die geval van Kendalvlieg as in die ander twee vliegemonsters gebruik. Die moontlikheid bestaan dus dat die toksiese effek aangetoon in die *Daphniatoets* toegeskryf kan word aan metaal/metale wat geloof het.

Hierdie resultate bevestig dus die tendens wat vroeër beskryf is in die *Daphniatoets*. Dit is dus duidelik dat Kendalvlieg as 'n groter gesondheidsgevaar inhou as Lethabo- of Matimbavlieg.

5.2.4. Algemeen

Die rangskikking van die vliegaspotikels in verskillende lae na voltooiing van die sentrifugasie van die vlieg/ logingsvloeistof suspensie dui daarop dat die respiratoriese fraksie verkry onderverdeel kan word in verskeie kleiner subfraksies.

Die feit dat daar so 'n definitiewe kleurverskil tussen die fraksies voorkom kan moontlik daarop dui dat die verskillende subfraksies se chemiese samestelling van mekaar verskil.

As die subfraksies se chemiese samestelling wel onderling van mekaar verskil is dit moontlik dat hierdie verskillende subfraksies se logingseienskappe en potensiële gesondheidsgevaar ook van mekaar kan verskil. Hierdie saak behoort verder in die toekoms ondersoek te word omdat die moontlikheid wel bestaan dat enige nadelige effek wat vliegaspotikels mag inhou, toegeskryf kan word aan een of meer spesifieke subfraksies.

Die manipulasie van die verbrandingstemperatuur waarteen die oonde funksioneer asook die stollingstempo kan veroorsaak dat die hoeveelheid partikels van die

verskillende skadelike subfraksies tot die minimum beperk kan word met 'n gevolglik vermindering van die gesondheidsgevaar.

Hierdie studie lig belangrike neigings uit aangaande die toksiese en mutageniese potensiaal van verbindings afkomstig van Suid-Afrikaanse vliegass. Die studie was dus van nut gewees nieteenstaande die stelling van Rothenberg *et al.* (1988) dat *in vivo* studies beter resultate lewer as *in vitro* studies vir sover dit die bio-beskikbaarheid van verbindings betref.

Die studie lig ook die feit uit dat dit uiters noodsaaklik is om meer respireerbare vliegasspartikels te versamel sodat die batterij toetse uitgevoer om die toksiese en mutageniese potensiaal aan te toon, uitgebrei en dubbel of verkieslik drievoudig uitgevoer behoort te word.

Die loodsstudie was ook uiters suksesvol en sinvol in dié sin dat van die metodes gebruik (*Daphnia*toets en Metaal-indikatortoets) nog nooit gebruik is om vliegasslogings te evalueer nie.

Die loodsstudie het ook getoon dat die logingstegniek in hierdie studie gebruik, geslaagd was en in die toekoms net so gebruik kan word.

HOOFSTUK 6

OPSOMMING

Verskeie chemiese verbindings kom voor in of op die vliegaspertikels wat gevorm word as neweproduk tydens die steenkoolverbrandingsproses wat gebruik word om elektrisiteit op te wek.

Die presiese chemiese samestelling van die vliegaspertikels word bepaal deur die samestelling, kwaliteit en bron van die steenkool verbrand asook die verbrandingstemperatuur en stollingstempo.

Die vliegaspertikels gevorm tydens die verbrandingsproses kan onderverdeel word in verskillende fraksies waarvan die samestelling waarskynlik van mekaar verskil.

Die metaal- en ander chemiese verbindings wat voorkom op of in die vliegaspertikels kan vrykom deur middel van 'n logingsproses wanneer die partikels ingeasem, ingesluk of gefagositeer word. Dit mag moontlik 'n gesondheidsgevaar vir die mens inhou.

Die studie was suksesvol omdat dit in sy doel geslaag het deur te bevestig dat daar wel metaal- en ander chemiese verbindings gelooë kon word. Dit wil voorkom of soutsuur die beste logingsoplossing is gevolg deur fisiologiese natriumchloriedoplossing en gesimuleerde surfaktant.

Kendalvliegaspertikels besit 'n groter toksiese potensiaal as Lethabo- en Matimbavliegaspertikels. Hierdie toksiese potensiaal kan dus moontlik toegeskryf word aan die metaalinhoud van die Kendalloging omdat dit meer inhibisie veroorsaak in die Metaalindikatorertoets as die ander twee vliegaspertikels. Metale wat moontlik 'n rol mag speel, alleen of in kombinasie met mekaar, omdat hulle in groter hoeveelhede in Kendalvliegaspertikels voorkom as in Lethabo- en Matimbavliegaspertikels is aluminium, barium, germanium, lantaan, neodimium, niobium,

serium, stronsium, sirkonium en torium. Met die uitsondering van aluminium, is die voorkoms van die genoemde elemente nie bepaal tydens die analyses van die logings nie. Dit is dus noodsaaklik om die voorkoms van hierdie elemente in opvolgstudies te bepaal. Die *Daphniatoets* is ook sensitief vir konsentrasies van koper en lood (Tabel 2.3) wat as toksies gesien kan word en onder die bepaalbaarheidslimiet van die Jarrel-Ash Atom Scan 2400 IGP AES spektrofotometer is. Die moontlikheid bestaan dus dat hierdie twee elemente 'n rol kan speel in die toksiese effek geïllustreer by al die logings gebruik. Die bydraende rol wat yster kon speel moet ook verder ondersoek word.

Geen chemiese verbindings is geloog wat 'n mutageniese potensiaal geopenbaar het met die Amestoets nie. Die moontlikheid bestaan egter dat 'n mutageniese potensiaal wel geopenbaar kan word wanneer 'n battery van toetse gebruik word wat spesiaal saamgestel is om dié moontlikheid te ondersoek omdat die Amestoets nie in staat is om metaal-mutagene aan te toon nie.

Deur die tegnieke wat gebruik is te verfyn en meer gesimuleerde liggaamsvloeistowwe te gebruik kan *in vitro* eksperimente op 'n gereelde grondslag 'n belangrike rol vervul in die bepaling van die toksiese en mutageniese potensiaal van vliegass. Die battery van toetse hiervoor moet egter baie selektief gekies word sodat die korrekte hoeveelhede logingsvloeistowwe en/of vliegasspartikels (van verskillende groottes) beskikbaar is.

Daar moet egter in gedagte gehou word dat daar in hierdie studie slegs van *in vitro* toetse gebruik gemaak is. Ekstrapolasie van resultate na moontlike effekte in die mens is nie moontlik nie, maar die resultate verkry lig wel neigings uit wat opgevolg sal moet word om te bepaal presies hoe dit die mens raak. Die toetse wat geselekteer word moet

in lyn wees met die riglyne neergelê deur die *EEC of die **OECD vir die uitvoer van toksisiteits- en genotoksiteitstoetse.

'n Uitgebreide moniteringsprogram kan van stapel gestuur word om die blootstellingsvlakke van die werkers te bepaal. Biologiese monitering ten opsigte van werkers wat die meeste blootgestel is aan vliegasspartikels om te bepaal of daar enige metale akkumuleer in die liggaam en indien so, in watter konsentrasies, kan ook uitgevoer word.

Die rol wat aluminium vertolk in die gesondheidsgevaar wat vliegasspartikels moontlik kan inhou kan ook moontlik deegliker ondersoek word in 'n opvolgstudie.

Die chemiese samestelling, logingseienskappe, toksiese en mutageniese potensiaal van die vliegasspartikels wat deur kragstasieskoorstene in die atmosfeer vrygestel word, sal ook bepaal moet word aangesien Fisher *et al.* (1976), Griest *et al.* (1982), Harris *et al.* (1984), Shifrine *et al.* (1984) en Wei *et al.* (1982b) gevind het dat skoorsteenvliegasspartikels 'n groter mutageniese potensiaal het as vliegasspartikels wat deur die presipitatorsisteen verwyder is.

* European Economic Council

** Organisation for Economic Co-operation and Development

HOOFSTUK 7

BIBLIOGRAFIE

- ALPAUGH, E.L. 1981. Particulates. (In Olishifski, J.B., ed. Fundamentals of industrial hygiene, second edition. Nasional Safety Council of America.)
- ACGIH (AMERICAN CONFERENCE of GOVERNMENTAL INDUSTRIAL HYGIENISTS). 1990. 1990 - 1991 Threshold limit values for chemical substances and physical agents and biological exposure indices. Cincinnati.
- AMES, B.N. 1971. The detection of chemical mutagens with enteric bacteria. (In Hollaender, A., ed. Chemical Mutagens, Principles and Methods for Their Detection. Plenum, N.Y. 1:267-282.)
- AMES, B.N. & Mc CANN, J. 1981. Validation of the Salmonella test: A reply to Rinkus and Legator. *Cancer Res.*, 41:4192-4196.
- AMES, B.N., Mc CANN, J. & YAMASAKI, E. 1975. Methods for detecting carcinogens and mutagens with the Salmonella/mammalian-microsome mutagenicity test. *Mutation Res.*, 31:347-364.
- ANDERSON, O. 1983. Effects of coal combustion products and metal compounds on sister chromatid exchange (SCE) in a macrophage like cell line. *Environ. Health Perspect.*, 47:239-253.
- BARWISE, W. 1989. Monsterneming van sweefstof, gasse en dampe. (In Schröder, H.H.E. & Schoeman, J.J. reds. Inleiding tot beroepshigiëne. Goodwood, Kaap Provinsie : Nasionale Boekdrukkery. p. 101-102.)
- BILEK, J., FIKER, S. & JANECKOVA, V. 1976. Action of powerplant fly ash in a model experiment. *Ceskoslovenska Dermatologie*, 51(2):73-76.
- BOSCH, G.L. & WILLIS, J.P. 1990. The chemical and mineral compositions of fly ash from three South African power stations. (In ASH: Eerste nasionale simposium van die Suid-Afrikaanse Steenkoolas Vereniging gehou op 17 en 18 Mei 1990 te WNNR-konferensiesentrum. Pretoria. p. 1-52.)

- BOSHOFF, H.P., BERGH, C.E. & KRUSZEWSKA, K.J. 1991. Analyses of coal product samples of producing South African collieries. WNNR Projek No. ENER 911001, Bulletin No. 105, Maart 1991, Pretoria.
- BRADSHAW, D. & SLAVIN, W. 1989. Rapid slurry analysis of solid and fly ash samples. *Spectrochimica Acta*, 44B(12):1245-1256.
- BROWN, J., RAY, N.J. & BALL, M. 1976. The disposal of pulverized fuel ash in water supply catchment area. *Water Res.*, 10:1115.
- CASARETT, L.J. & DOULL, P. 1975. Toxicology: The basic science of poisons. Macmillan, New York.
- CCOHS (CANADIAN CENTRE for OCCUPATIONAL HEALTH and SAFETY). 1988. Chemical Hazard Summary. 40 Coal-fired Fly Ash. Ontario.
- CHAUHAN, S.S., CHAUDHARY, V.K., NARAYAN, S & MISRA, U.K. 1987. Cytotoxicity of inhaled coal fly ash in rats. *Environmental Research*, 43:1-12.
- COLES, D.G., RAGAINI, R.C. & ONDOV, J.M. 1979. Chemical studies of stack fly ash from a coal-fired power plant. *Environmental Science & Technology*, 13(4):455-459.
- COOK, P.B. 1989. Trevethick's occupational health hazards: A practical industrial guide. Second edition. Heinemann Medical Books. London.
- CORNELL, D.H. 1984. Mineral composition of PFA. Vorderingsverslag van die PKA Loodskomitee van die WNNR. Dokument 7, Augustus.
- CZYGAN, P., GREIM, H., GARRO, A.J., HUTTERER, F., SCHAFFNER, F., POPPER, H., ROSENTHAL, O. & COOPER, D.Y. 1973. Microsomal metabolism of dimethylnitrosamine and the cytochrome P-450 dependency of its activation to a mutagen. *Cancer Res.*, 33:2983-2986.
- DALLAS, H.F. & DAY, J.A. 1993. The effect of water quality variables on riverine ecosystems: A Review. Prepared for the Water Research Commission by the Freshwater Research Unit, University of Cape Town, Report No. TT 61/93, Rondebosch.
- DORLAND'S Illustrated Medical Dictionary. 1981. W.B. Saunders Company. Def. of Mutagens.

- DUDAS, M.J. & WARREN C.J. 1987. Submicroscopic model of fly ash particles. *Geoderma*, 40:101-114.
- EEC (European Economic Council). 1993. Toxicological and metabolism studies on the active substance. (In Lynch, M.R. eds. The study concerning the inclusion of active substances in Annex I to council directive 91/414/EEC. Directorate-General for Agriculture. Brussels.)
- ELINDER, C.G. & PISCATOR, M. 1979. Zinc. (In Friberg, L., Nordberg F.G, & Vouk, V.B. eds. Handbook on the Toxicology of Metals. Elsevier/North-Holland Biomedical Press. Oxford. p. 675-685.
- ELNABARAWY, M.T., WELTER, A.N. & ROBIDEAU, R.R. 1986. Relative sensitivity of three *Daphnia* species to selected organisms and inorganic chemicals. *Environ. Toxicol. & Chem.*, 5:393-398.
- FISHER, G.L., CHANG, D.P.Y. & BRUMMER, M. 1976. Fly ash collected from electrostatic precipitators. Microcrystalline structures and the mystery of the spheres. *Science*, 192:553-555.
- FISHER, G.L., CHRISP, C.E. & RAABE, O.G. 1978. Physical factors affecting the mutagenicity of fly ash from a coal-fired power station. *Science*, 204:879-881.
- FURUYA, K., MIYAJIMA, Y., CHIBA, T., & KIKUCHI, T. 1987. Elemental characterization of particle size-density separated coal fly ash by spectrophotometry, inductively coupled plasma emission spectrometry, and scanning electron microscopy-energy dispersive X-ray analysis. *Environ. Sci. Technol.*, 21(9):898-903.
- GARNER, R.C., MILLER, E.C. & MILLER, J.A. 1972. Liver microsomal metabolism of aflatoxin B1 to a reactive derivative toxic to *Salmonella typhimurium* TA1530. *Cancer Res.*, 32:2058-2066.
- GLASSER, D., BRYSON, A.W., VERBAAN, B. & LOUW, G. 1984. The leaching of pulverized fuel ash. WNNR Projek No. PKA Loodskomiteevergadering, Progress Report Number 1. 1 Aug 1984. Dok. 8, Pretoria.
- GLATZ, B.A. 1979. Short-term bio-assays for environmental mutagens and carcinogens. *J. A.W.W.A.*, 150:396-401.

- GOLDEN, E.B., WARNOCK, M.L., HULETT Jr., L.D. & CHUNG, A.M. 1982. Fly ash lung: A new pneumoconiosis?. *Am. Rev. Respir. Dis.*, 125:104-112.
- GRABOW, W.O.K., MORGAN, W.S.G. en SLABBERT, J.L. 1985. Bio-assays used for evaluating the quality of reclaimed water in Southern Africa. *Water Quality Bulletin*, 10:29-35,59.
- GRIEST, W.H., CATON, J.E., RAO, T.K., HARMON, S.H., YEATTS Jr, L.B. & HENDERSON, G.M. 1982. Characterization of mutagenic coal fly ash and extracts. *Int. J. Environ. Anal. Chem.*, 12:241-252.
- GRIFFIS, L.C., SNIPES, M.B & BROOKS, A.L. 1981. Clearance by rat of inhaled fly ash from fluidized-bed coal combustion. *Journal of Toxicology and Environmental Health*, 7:117-124.
- HARRIS, W.R., CHESS, E.K., OKAMOTO, D., REMSEN, J.F. & LATER, D.W. 1984. Contribution of nitropyrene to the mutagenic activity of coal fly ash. *Environ. Mutagen.*, 6:131-144.
- HARRIS, W.R. & SHIFRINE, M. 1987. Inhibition of lymphocyte blastogenesis by serum leachates of fly ash. *Journal of Toxicology and Environmental Health*, 21:341-352.
- HAYNES, B.S., NEVILLE, M., QUANN, R.J. & SAROFIM, A.F. 1982. Factors governing the surface enrichment of fly ash in volatile species. *J. Colloid Interface Sci.*, 87:266-278.
- HOLLIS, J.F., KEREN, R. & GAL, M. 1988. Boron release and sorption by fly ash as affected by pH and particle size. *J. Environ. Qual.*, 17(2):181-184.
- KALKWARF, D.R., JACKSON, P.O. & HARDIN, J.M. 1984. Lung-clearance classification of radionuclides in coal fly ash. *Health Physics*, 47(1):37-45.
- KANEMATSU, N. HARA, M. & KADA, T. 1980. Rec assay and mutagenicity studies on metal compounds. *Mutat. Res.* 77:109-116.
- KENDALL, M. & STUART, A. 1969. The Advance Theory of Statistics. Vol 1 Third Edition. London Griffen. 1-439.

- KFIR, R. 1981. The detection and assay of potential carcinogens and toxicants in water by tissue culture techniques. Pretoria:Universiteit van Pretoria. (Proefskrif - D.Sc.)
- KIER, L.D., YAMASAKI, E. & AMES, B.N. 1974. Detection of mutagenic activity in cigarette smoke condensates. *Proc. Natl. Acad. Sci. (U.S.A.)*, 71:4159-4163.
- KLEINJANS, J.C.S., JANSSEN, Y.M.W., van AGEN, B., HAGEMAN, G.J. & SCHREURS, J.G.M. 1989. Genotoxicity of coal fly ash, assessed *in vitro* in *Salmonella typhimurium* and human lymphocytes, and *in vivo* in an occupationally exposed population. *Mutation Research*, 224:127-134.
- KNIGHT, A.L. 1988. The rare earths. (In Zenz, C. eds. Occupational Medicine; Principles and practical applications. Second edition. Year book medical publishers. London. p. 609-613.)
- KUBITSCHKEK, H.E. & VENTA, L. 1979. Mutagenicity of coal fly ash from electric power plant precipitators. *Environ. Mutagen.*, 1:79-82.
- LEONARD, A. & GERBER, G.B. 1988. Mutagenicity, carcinogenicity and teratogenicity of aluminium. *Mutat. Res.*, 196:247-257.
- LEONARD, A. 1988. Mechanisms in metal genotoxicity: the significance of *in vitro* approaches. *Mutat. Res.*, 198:321-326.
- LESCH, W. & CORNELL, D.H. 1987. The mineralogy and morphology of fly ash from South African power stations. (In Ash - A valuable resource. Environmental aspects - Special products - Mineral beneficiation. Kongres gehou op 2 tot 6 Februarie 1987 te WNNR-konferensiesentrum. Pretoria. S.387 Volume 3.)
- LISKOWITZ, J.W., TRATTNER, R.B., GROW, J.M., SHEIH, M.S., KING, J.A., KOHUT, J. & ZWILLENBERG, M. 1986. Sorbent and leachate characteristics of fly ash. *Fossil Fuel Utilization: Environmental Concerns*, 27:332-343.
- LUI, W.K., WONG, M.H. & TAM F.Y. 1986. Comparison of hemolytic activities of coal fly ash and its soluble and insoluble fractions. *Environmental Research*, 40:459-469.

- LUNDBORG, M., EKLUND, A., LIND, B. & CAMNER, P. 1985. Dissolution of metals by human and rabbit alveolar macrophages. *Br. J. Ind. Med.*, 42:642-645.
- LUNDBORG, M., LIND, B. & CAMNER, P. 1984. Ability of rabbit alveolar macrophages to dissolve metals. *Exp. Lung Res.*, 7:11-22.
- MARAFANTE, E., LUNDBORG, M., VAHTER, M. & CAMNER, P. 1987. Dissolution of two arsenic compounds by rabbit alveolar macrophages *in vitro*. *Fundam. Appl. Toxicol.*, 8:382-388.
- MARON, D.M. & AMES, B.N. 1983. Revised methods for the *Salmonella* mutagenicity test. *Mutation Research*, 113:173-215.
- MARTIN, T.R., CHI, E.Y., COLVERT, D.S., HODSON, A.W., KESSLER, D.E., MOORE, W.E., ALTMAN, L.C. & BUTLER, J. 1983. Comparative effects of inhaled volcanic ash and quartz in rats. *Amer. Rev. Respir. Dis.*, 128:144-152.
- MARZIN, D.R. & Hung Vo Phi. 1985. Study of the mutagenicity of metal derivatives with *Salmonella typhimurium* TA 102. *Mutat. Res.*, 155:49-51.
- MASON, B. 1966. Principles of Geochemistry, 3rd ed., Wiley, New York. p. 55-59.
- MASTROMATTEO, E. 1988. Nickel and its compounds. (In Zenz, C. eds. Occupational Medicine; Principles and practical applications. Second edition. Year book medical publishers. London. p. 597-608.)
- Mc CANN, J., CHOI, E., YAMASAKI, E. & AMES, B.N. 1975. Detection of carcinogens as mutagens in the *Salmonella*/microsome test: Assay of 300 chemicals. *Proc. Natl. Acad. Sci. (U.S.A.)*, 72:5135-5139.
- Mc LEMORE, T.L., MAULDIN, J.E., MARSHALL, M.V., TEAGUE, R., FORD, G., BUSBEE, D.L., WRAY, N.P., GRIFFIN, A.C. & GREENBERG, S.D. 1984. Biological effect of Mount Saint Helens volcanic ash on cultured human alveolar macrophages. *J. Amer. Coll. Toxicol.*, 3(1):25-35.
- METELERKAMP, N.C. 1986. The development of an enzyme test system, using urease, to detect toxic levels of heavy metals in drinking water, under (a) laboratory simulated, and (b) field conditions. WNNR Projek No. 620/9341/4, Lêer No. W29/1/3, Pretoria.

- MEYER, B.J., 1988a. Anorganiese samestelling van die liggaam. (In Meyer, B.J. red. Die Fisiologiese Basis van Geneeskunde, Vierde uitgawe. Pretoria: HAUM Opvoedkundige Uitgewers. 2.1-2.10)
- MEYER, B.J. 1988b. Bylae. (In Meyer, B.J. red. Die Fisiologiese Basis van Geneeskunde, Vierde uitgawe. Pretoria: HAUM Opvoedkundige Uitgewers. xv)
- MEYER, B.J. & GREY, S.V. 1988. Anemieë: bloeding, milt, vitamien B12, foliensuur, yster polisitemieë. (In Meyer, B.J. red. Die Fisiologiese Basis van Geneeskunde, Vierde uitgawe. Pretoria: HAUM Opvoedkundige Uitgewers. 25.1-25.5)
- MOSS, O.R. 1979. Simulants of interstitial fluid. *Health Phys.*, 36:477-478.
- NATUSCH, D.F.S., WALLACE, J.R. & EVANS Jr., C.A. 1974. Toxic trace elements: Preferential concentration in respirable particles. *Science*, 183:202-204.
- OECD (Organisation for Economic Co-operation and Development). 1986. Guidelines on genetic toxicology testing. Guidelines 479 - 485, Paris.
- OLIVIER, P.H. & MARZIN, D. 1987. Study of the genotoxic potential of 48 inorganic derivatives with the SOS chromotest. *Mutat. Res.*, 189,263-269.
- PISCATOR, M. 1980. Manganese. (In Friberg, L., Nordberg F.G, & Vouk, V.B. eds. Handbook on the Toxicology of Metals. Elsevier/North-Holland Biomedical Press. Oxford. p. 485-501.)
- PURCHASE, I.P.H. 1982. An appraisal of predictive tests for carcinogenicity. *Mutation Research*, 99:53-71.
- RAASK, E. 1980. Quartz, sulphates and trace elements in pf ash. *Journal of the Institute of Energy*, 70:70-75.
- ROTHENBERG, S.J., SEILER, A.F., CASUCCIO, G.S., SPANGLER, C.E. & HOBBS, C.H. 1988. Isolation and characterization of fly ash from lung tissue. (Available from Inhalation Toxicology Research Institute, Lovelace or Biomedical and Environmental Research Institute, Albuquerque, New Mexico.)

- ROWE, D.M., SOLOMAYER, J.A. & ZENZ, C. 1988. Other metals. (In Zenz, C. eds. Occupational Medicine; Principles and practical applications. Second edition. Year book medical publishers. London. p. 639-661.)
- RSC (The Royal Society of Chemistry). 1989a. Aluminium (In Allen, R. eds Chemical Safety Data Sheets Volume 2: Main Group Metals and their Compounds, The Royal Society of Chemistry, Cambridge. p. 1-5.)
- RSC (The Royal Society of Chemistry). 1989b. Potassium (In Allen, R. eds Chemical Safety Data Sheets Volume 2: Main Group Metals and their Compounds, The Royal Society of Chemistry, Cambridge. p. 262-264.)
- RSC (The Royal Society of Chemistry). 1989c. Calcium (In Allen, R. eds Chemical Safety Data Sheets Volume 2: Main Group Metals and their Compounds, The Royal Society of Chemistry, Cambridge. p. 134-137.)
- RSC (The Royal Society of Chemistry). 1989d. Lead (In Allen, R. eds Chemical Safety Data Sheets Volume 2: Main Group Metals and their Compounds, The Royal Society of Chemistry, Cambridge. p. 193-197.)
- RSC (The Royal Society of Chemistry). 1989e. Magnesium (In Allen, R. eds Chemical Safety Data Sheets Volume 2: Main Group Metals and their Compounds, The Royal Society of Chemistry, Cambridge. p. 251-255.)
- RSC (The Royal Society of Chemistry). 1989f. Sodium (In Allen, R. eds Chemical Safety Data Sheets Volume 2: Main Group Metals and their Compounds, The Royal Society of Chemistry, Cambridge. p. 321-324.)
- SCHILLING, C.J., TAMS, I.P., SCHILLING, R.S.F., NEVITT, A., ROSSITER, C.E. & WILKENS, B. 1988. A survey into the respiratory effects of prolonged exposure to pulverised fuel ash. *British Journal of Industrial Medicine*, 45:810-817.
- SCHRÖDER, H.H.E. 1989. Gezondheidsgevaarlike sweefstowwe. (In Schröder, H.H.E. & Schoeman, J.J. eds. Inleiding tot beroepshigiëne. Goodwood, Kaap Provinsie : Nasionale Boekdrukkery. p. 51-72.)

- SLABBERT, J.L., VENTER, E.A., du PREEZ, M., OOSTHUIZEN, J. & HILL, E. 1992. Development of guidelines for toxicity bio-assaying of drinking and environmental waters in South Africa. Water Research Commission, Progress Report Jan. - Dec. 1991, Pretoria.
- SMIT, Z.M. & MEYER, B.J. 1988. Algemene aspekte van voeding. (In Meyer, B.J. red. Die Fisiologiese Basis van Geneeskunde, Vierde uitgawe. Pretoria: HAUM Opvoedkundige Uitgewers. 51.9-51.10)
- SMITH, R.D. 1980. The trace element chemistry of coal during combustion and the emission from coal-fired plants. *Proc. Ener. Combust. Sci.*, 6:53-119.
- SRIVASTAVA, V.K., SENGUPTA, S., KUMAR, R. & MISRA, U.K. 1984. Distribution of metals of inhaled fly ash in various organs of rats at various periods after exposure. *J. Environ. Sci. Health*, A19(6):663-677.
- SRIVASTAVA, V.K., SRIVASTAVA, P.K., KUMAR, R. & MISRA, U.K. 1986. Seasonal variations of metals in coal fly ash. *Environmental Pollution (Series B)*, 11:83-89.
- STEWART, R.I. & MEYER, B.J. 1988. Organisasie van die asemhalingstelsel. (In Meyer, B.J. red. Die Fisiologiese Basis van Geneeskunde, Vierde uitgawe. Pretoria: HAUM Opvoedkundige Uitgewers. 41.1-41.3)
- STEYN, A.G.W., SMITH, C.F. & Du TOIT, S.H.C. 1989. Moderne Statistiek vir die Praktyk. Vierde Uitgawe. Pretoria. Van Schaik. 1-615.
- TANAKA, I., MATSUNO, K., KODAMA, Y. & AKIYAMA, T. 1983. Pulmonary deposition of fly ash aerosol by inhalation. *Journal of the University of Occupational and Environmental Health*. 5:423-431.
- THERON, J.J. & van PAPENDORF, D.H. 1988. Spysverteringstelsel: anatomie en motoriese organisasie. (In Meyer, B.J. red. Die Fisiologiese Basis van Geneeskunde, Vierde uitgawe. Pretoria: HAUM Opvoedkundige Uitgewers. 52.1-52.13)
- TIDY, D. 1986. A leaching technique for determining the surface composition of pulverized fuel ash (PFA). *Journal of the Institute of Energy*, 70:70-76.

US EPA (United States of America's Environmental Protection Agency). 1985. Methods for measuring the acute toxicity of effluents to freshwater and marine organisms. EPA/600/4-85/013, Environmental and Support Laboratory, Office of Research and Development, US Environmental Protection Agency, Cincinnati, Ohio.

WEHNER, A.P., WILKERSON, C.L., MAHAFFEY, J.A. & MILLIMAN, E.M. 1980. Fate of inhaled fly ash in hamsters. *Environ. Res.*, 22:485-498.

WEI, C.I., CULBERTSON, M.R., SHIFRINE, M., ROSENBLATT, L.S. & CHRISP, C.E. 1982a. Comparative studies on *in vivo* carcinogenesis in rats and *in vitro* mutagenesis of mutagenic coal fly ash. *J. Toxicol. Environ. Health*, 10:587-600.

WEI, C.I., RAABE, O.G. & ROSENBLATT, L.S. 1982b. Microbial detection of mutagenic nitro-organic compounds in filtrates of coal fly ash. *Environ. Mutagen.*, 4:249-258.