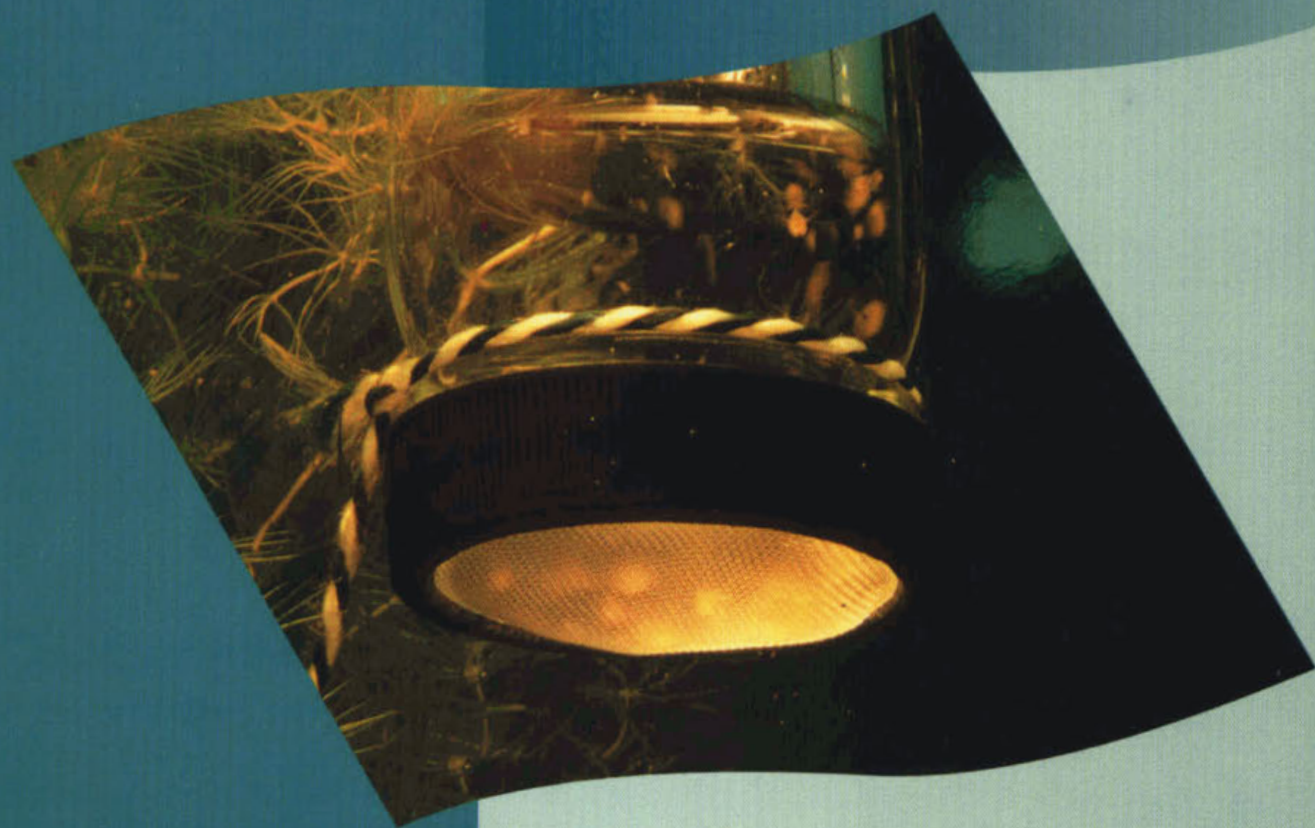


# Biomonitoringtechnieken voor bestrijdingsmid- delen en zware metalen in watersystemen

*Deel 2: Keuzesysteem en praktijktoetsing*



97 27



**Biomonitoringtechnieken voor bestrijdingsmid-  
delen en zware metalen in watersystemen**

*Deel 2: Keuzesysteem en praktijktoetsing*

97 27

Arthur van Schendelstraat 816  
Postbus 8090, 3503 RB Utrecht  
Telefoon 030 232 11 99  
Fax 030 232 17 66

Publicaties en het publicatie-  
overzicht van de STOWA kunt u  
uitsluitend bestellen bij:  
*Hageman Verpakkers BV*  
Postbus 281  
2700 AC Zoetermeer  
o.v.v. ISBN- of bestelnummer en  
een duidelijk afleveradres.  
ISBN 90.74476.90.2

# INHOUD

	TEN GELEIDE	III
	SAMENVATTING	V
1	INLEIDING	9
1.1	(Bio)monitoring van probleemstoffen	9
1.2	Begrippenkader	10
1.2.1	Inleiding	10
1.2.2	Typen biomonitoring	10
1.3	Doelstelling van het project	12
1.4	Leeswijzer	12
2	INVENTARISATIE-ONDERZOEK	15
2.1	Doel en uitvoering	15
2.2	Beschikbare actieve biomonitoringstechnieken	15
2.3	Algemene ervaringen waterkwaliteitsbeheerders met actieve biomonitoring	16
2.4	Selectie van technieken voor het keuzesysteem	16
2.4.1	Eerste selectieronde	17
2.4.2	Tweede selectieronde	17
2.4.3	Derde selectieronde	17
2.5	Aanvulling van toxiciteitgegevens voor de geselecteerde technieken	18
3	BESCHRIJVING GESELECTEERDE TECHNIEKEN	21
3.1	Algemeen overzicht van de geselecteerde technieken	21
3.2	Lab-bioassays	22
3.3	Veldbioassays	24
3.4	Biologische bewakingssystemen	24
4	KEUZESYSTEEM	25
4.1	Randvoorwaarden voor een geschikt keuzesysteem	25
4.1.1	Locatie- en stofgroepspecifiek	25
4.1.2	Kosten-effectief	25
4.1.3	Logisch	26
4.2	Keuzesysteem	26
4.3	Onderbouwing keuzesysteem	26
4.3.1	Het type biomonitoring?	26
4.3.2	Chemische of ecotoxicologische effectmonitoring?	29
4.3.3	Constante, wisselende of piekbelasting?	29
4.3.4	'Vinger aan de pols' gewenst?	30
4.3.5	Steek- versus verzamelmonster en gewenste relatie tussen chemie en effect?	30
4.3.6	Gevoeligste techniek of testbatterij?	31
4.3.7	Effect aangetoond?	34

5	PRAKTIJKTOETSING VAN (DELEN VAN) HET KEUZESYSTEEM	35
5.1	Inleiding	35
5.1.1	Beoordeling watermonsters uit STOWA-project 'Indicatieve methoden'	35
5.1.2	Uitproberen keuzesysteem op enkele praktijklocaties	35
5.2	Praktijkmonitoring metalen	36
5.3	Praktijkmonitoring bestrijdingsmiddelen	43
5.3.1	Monsters STOWA-project 'Indicatieve methoden'	43
5.3.2	Beheersgebied Hoogheemraadschap van Delfland	45
5.3.3	Beheersgebied Heemraadschap Fleverwaard	50
5.3.4	Aanvullende informatie: beheersgebied Waterschap Groot Salland	56
5.3.5	Samenvattend	56
6	DISCUSSIE, CONCLUSIES EN AANBEVELINGEN	57
6.1	Discussie	57
6.1.1	Inleiding	57
6.1.2	Kunnen de biomonitoringvragen worden beantwoord met het keuzesysteem?	57
6.1.3	Voldoet keuzesysteem aan randvoorwaarden?	58
6.2	Conclusies	59
6.3	Aanbevelingen	60
7	BEGRIPPENLIJST	61
8	REFERENTIES	67
	BIJLAGEN	77



## TEN GELEIDE

Op 30 november 1994 werd door het Algemeen Bestuur van de Stichting voor Toegepast onderzoek Waterbeheer (STOWA) het 'Onderzoeksprogramma 1995-1999; projectenboek' vastgesteld. Hiermee werd het startsein gegeven voor een aanzienlijk aantal projecten (STOWA-thema's) voor het jaar 1995. Doel van deze projecten is het anticiperen op behoeften aan, en leemten in kennis bij de STOWA deelnemers (de waterbeheerders) in de periode tot het jaar 2000.

Een van deze projecten is 'Biomonitoringstechnieken voor bestrijdingsmiddelen en zware metalen in watersystemen'. Dit project valt onder STOWA thema 15 'Biologische bewaking van oppervlaktewater'. Aan AquaSense is door STOWA de opdracht verleend om dit project uit te voeren.

Dit project is namens STOWA begeleid door een begeleidingscommissie die samengesteld is uit de volgende leden: dr. J. Hemelraad (GTD Oost-Brabant), dr. ir. A.J. Hendriks (RIZA), dr. S.P. Klapwijk (STOWA), dhr. M. Meirink (Hoogheemraadschap van Uitwaterende Sluizen), drs. A.G. Snijders (TAUW Milieu), ir. B. van der Veer (Hoogheemraadschap van Rijnland) en drs. D. de Zwart (RIVM).

De volgende medewerkers van AquaSense hebben het project uitgevoerd: drs. J.M. Brils, dr. F. Heinis, dr. J.F. Postma, en ir. L.R.M. de Poorter.

Het resultaat van dit project bestaat uit twee delen. Het eerste deel, het *inventarisatierapport*, betreft de resultaten van een inventarisatie van bruikbare testen en technieken, alsmede de resultaten van een onder de regionale waterkwaliteitsbeheerders gehouden enquête (STOWA, 1997). Het tweede, voorliggende deel, bevat een *keuzesysteem* waarmee waterbeheerders situatiespecifiek de meest geschikte biomonitoringstechniek kunnen selecteren en toepassen. Verder worden in dit rapport de resultaten geëvalueerd van een gedeeltelijke toepassing van het keuzesysteem op een aantal praktijklocaties.

Utrecht, juni 1997

De directeur van de STOWA

drs. J.F. Noorthoorn van der Kruijff

## SAMENVATTING

### Aanleiding en doel

Bij de Nederlandse waterkwaliteitsbeheerders bestaat een grote behoefte aan praktische, biologische testsystemen voor het beoordelen van de actuele kwaliteit van oppervlaktewateren. Door de STOWA werd in 1995 aan AquaSense opdracht verleend om een keuzesysteem te ontwikkelen waarmee waterbeheerders voor specifieke situaties technieken kunnen selecteren (en toepassen) voor de biologische monitoring van bestrijdingsmiddelen en zware metalen in oppervlaktewateren. Dit keuzesysteem zou zich vooral moeten richten op het toepassen van technieken waarmee directe effecten van deze verontreinigingen kunnen worden aangetoond en waarmee dus een actuele risicobeoordeling mogelijk is.

Het keuzesysteem zou kunnen worden ingezet bij:

- het monitoren van de actuele waterkwaliteit en het waarnemen van trends in deze kwaliteit,
- het detecteren van en vroeg alarmeren bij de aanwezigheid van verontreiniging(en),
- het beoordelen of voldaan wordt aan gestelde normen voor de waterkwaliteit.

### Inventarisatie en enquête

Alvorens een keuzesysteem samen te stellen, is geïventariseerd welke biomonitoringstechnieken op dit moment (medio 1996) beschikbaar zijn. Hierbij zijn zowel biomonitoringstechnieken geïventariseerd waarbij gebruik wordt gemaakt van een experimentele opstelling in laboratorium of veld (actieve biomonitoring) als technieken waarbij in het veld verzamelde organismen worden bestudeerd (passieve biomonitoring). Uit de inventarisatie bleek dat de passieve technieken zich minder goed lenen voor een effectgerichte monitoring van verontreinigende stoffen, en daarom is de aandacht in het vervolgotraject gericht op de actieve biomonitoringstechnieken (laboratorium- en veldbioassays en biologische bewakingssystemen). Vervolgens zijn de meest geschikte biologische monitoringstechnieken geselecteerd als basis voor het keuzesysteem. Deze selectie bevat 4 laboratoriumbioassays, 3 veldbioassays en 3 biologische bewakingssystemen (zie Hoofdstuk 3 voor een uitgebreide beschrijving).

Vanwege de omvang van de inventarisatie zijn de resultaten van dit onderzoek gepubliceerd in twee delen: een inventarisatierapport en het voorliggende rapport. In het inventarisatierapport worden de resultaten van een literatuur- en database-onderzoek naar de bestaande passieve en actieve biomonitoringstechnieken beschreven. Tevens bevat dit rapport de resultaten van een enquête onder Nederlandse regionale waterkwaliteitsbeheerders, waarin is gevraagd naar de ervaringen (aangevuld met ervaringen van overige instanties in Nederland) en wensen met betrekking tot de biomonitoring van zware metalen en bestrijdingsmiddelen in oppervlaktewater (STOWA, 1997). De resultaten van dit eerste deelrapport worden samengevat weergegeven in Hoofdstuk 2 van het voorliggende rapport.

### Keuzesysteem voor de selectie van technieken

In het voorliggende rapport wordt het ontwikkelde keuzesysteem gepresenteerd en beschreven (Hoofdstuk 4 en de 'uitklapversie' achter de bijlagen). Verder worden in dit rapport de resultaten geëvalueerd van de toepassing van het keuzesysteem op enkele praktijklocaties. Uit de ervaringen en wensen van de waterkwaliteitsbeheerders met betrekking tot de biomonitoring van zware metalen en bestrijdingsmiddelen kwam een aantal criteria naar voren waaraan het keuzesysteem zou moeten voldoen. De belangrijkste hiervan zijn:

- *Met het keuzesysteem moet zowel een locatie- als een stofgroepspecifieke beoordeling mogelijk zijn;*

In het ontwikkelde keuzesysteem is dit gerealiseerd, doordat de lokale situatie alsmede de aanwezige kennis van de problematische stofgroepen van directe invloed is op de selectie van de te gebruiken technieken.



- *De biomonitoringstechnieken moeten zo kosten-effectief mogelijk worden toegepast;*  
Om aan deze voorwaarde te voldoen biedt het keuzesysteem de gelegenheid om naast de strikt wetenschappelijke opties ook een aantal meer pragmatische en/of financiële keuzen te implementeren. Daarnaast vormt het van te voren inschatten van de te verwachten effecten (op basis van historische kennis over de aanwezige concentraties én inzicht in de gevoeligheid van de testorganismen voor specifieke verbindingen) een essentieel onderdeel van het keuzesysteem. Ook hiermee wordt de kosten-effectiviteit aanzienlijk verhoogd.
- *Het keuzesysteem moet logisch zijn;*  
De inzichtelijkheid van het keuzesysteem is geoptimaliseerd door de te nemen beslissingen kort en bondig te formuleren, de hiervoor benodigde gegevens met aparte symbolen aan te geven en (indien mogelijk) dezelfde onderdelen op verschillende plekken te laten terugkomen. Tijdens het gebruik van het keuzesysteem in de praktijk moet blijken of deze aanpak als logisch wordt ervaren.

### **Praktijktoetsing**

Tijdens de uitgevoerde praktijktoetsen (Hoofdstuk 5) werden met een beperkte (financiële) inspanning, op verschillende locaties acute effecten van het onverdunde oppervlaktewater vastgesteld. Er werd echter ook een aantal mogelijke problemen geconstateerd (zoals bij elk nieuw ontwikkeld systeem), die het succesvol toepassen van dit keuzesysteem kunnen bemoeilijken. De belangrijkste hiervan zijn:

- In een aantal gevallen bleken de actuele concentraties in het oppervlaktewater (veel) lager dan verwacht op basis van de historische informatie. Het aantonen van acuut toxische effecten was daarom niet altijd mogelijk, ondanks het feit dat de kans hierop van te voren als 'redelijk' was ingeschat. Wanneer de betrouwbaarheid en representativiteit van de beschikbare chemische analyses onvoldoende zeker is, is het aan te raden om bij verdere toepassing van het keuzesysteem in de praktijk meerdere testen in te zetten (testbatterij). Daarmee kan een breder spectrum van negatieve effecten worden gedetecteerd.
- Daarnaast was niet in alle praktijktoetsen sprake van een duidelijke relatie tussen de gemeten gehalten van bepaalde verontreinigingen en de mate van biologisch effect. Zo kon het voorkomen, dat effecten wel werden verwacht op basis van de chemische analyses, maar niet werden aangetoond óf dat effecten juist niet werden verwacht maar wel werden aangetroffen. Mogelijke verklaringen hiervoor zijn verschillen in biologische beschikbaarheid, de aanwezigheid van 'modifying factors', het optreden van fluctuaties in de concentraties gedurende de testperiode (m.b.t. de veldbioassays) of een te beperkt chemisch analysepakket. Het ontbreken van een duidelijke relatie tussen gemeten gehalte en mate van effect moet echter niet als een tekortkoming van biologische monitoring worden gezien. Het vormt juist een illustratie voor het feit dat bij het beoordelen en monitoren van de huidige kwaliteit van het oppervlaktewater resultaten van chemische analyses en biologische testen elkaar aanvullen, in plaats van elkaar uitsluiten dan wel overbodig maken.

### **Conclusies**

De voornaamste conclusies van het in dit rapport beschreven onderzoek luiden:

- Met het ontwikkelde keuzesysteem is het mogelijk biologische technieken te selecteren voor een locatie- en stofgroepspecifieke monitoring van zware metalen en bestrijdingsmiddelen in oppervlaktewater.
- Biologische monitoringstechnieken kunnen worden ingezet om hoge concentraties van verontreinigingen te monitoren. In de toekomst kunnen lagere concentraties mogelijk ook worden gedetecteerd als nieuwe, meer gevoelige technieken voldoende zijn gevalideerd (o.a. biomarkertesten). Daarnaast kunnen biologische monitoringstechnieken worden gebruikt om een beeld te krijgen van de actuele waterkwaliteit; de relatie met gehalten aan verontreinigingen is dan echter niet altijd te leggen.

- De in het ontwikkelde keuzesysteem opgenomen technieken zijn niet geschikt om te beoordelen of wordt voldaan aan de geldende chemische normen. Resultaten van biologisch onderzoek geven complementaire informatie over de biologische beschikbaarheid en de gecombineerde werking van alle aanwezige verontreinigingen (dus inclusief de niet gemeten stoffen).
- Van de geselecteerde technieken zijn de acute bacterietest, de watervlooiëntest en de Rotoxkit F-test (lab-bioassays), de watervlooiën veldbioassay en de biologische bewakingssystemen met Daphnia en mosselen routinematig toepasbaar. De veelbelovende, maar nog niet voldoende gevalideerde, acute algentest, de veldbioassays met kroos en muggenlarven en de DF-Algentest (biologisch bewakingssysteem) zijn nog niet routinematig toepasbaar.

### **Aanbevelingen**

Op grond van het in dit rapport beschreven onderzoek zijn de volgende aanbevelingen geformuleerd:

- Verdere uitontwikkeling van de acute algentest, de kroostest, de muggelarve veldbioassay en de DF-Algentest;
- Wanneer technieken voor het concentreren van oppervlaktewater voldoende zijn uitontwikkeld en gevalideerd (schatting: binnen nu en 5 jaar), deze gebruiken om zo ook lagere dan piekconcentraties te kunnen detecteren met de geselecteerde lab-bioassays. Bovendien kan door het kiezen van specifieke concentreringstechnieken de stofspecificiteit worden verhoogd;
- Wanneer biomarkertesten voldoende zijn uitontwikkeld en gevalideerd (schatting: binnen nu en 5 jaar), deze (eventueel in combinatie met een concentreringsstap) opnemen in het keuzesysteem en gebruiken om ook lagere dan piekconcentraties te kunnen detecteren;
- Herhaalde toepassing van de technieken op dezelfde locatie om zo beter inzicht te krijgen in de invloed van seizoensfluctuaties op het gemeten effect, zodat daarna de ecologische relevantie beter kan worden beoordeeld;
- 'Up to date' houden van de gegenereerde overzichten met toxiciteitdata;
- Invoering van een zekere mate van 'effect'-normering, om zo de beperkingen van een puur chemisch gerichte beoordeling te verkleinen.



# 1 INLEIDING

## 1.1 (Bio)monitoring van probleemstoffen

In veel watersystemen vormt het voorkomen van hoge concentraties aan zware metalen en/of bestrijdingsmiddelen een probleem (CUWVO, 1994). Zo overschreden in 1993 de gehalten aan kwik en zink de grenswaarde op 60% van de onderzochte (regionale) locaties en was dat voor koper zelfs op 90% van de locaties. Ook cadmium en nikkel kwamen regelmatig boven de grenswaarde voor. Van de op de M-lijst voorkomende bestrijdingsmiddelen (Ministerie van Verkeer en Waterstaat, 1989) overschreden vooral lindaan en cholinesteraseremming veelvuldig de grenswaarde in water. Ook van een groot aantal andere gemeten bestrijdingsmiddelen werden overschrijdingen van de grenswaarde waargenomen.

In Nederland worden alleen de op de M-lijst voorkomende stoffen regelmatig chemisch gemeten. Zeer veel bestrijdingsmiddelen worden echter niet of slechts incidenteel gemeten, omdat ze als I-lijst stof zijn aangemerkt (alleen inventariserende metingen) of omdat het nieuwe verbindingen betreft. Daarnaast is het meten van vooral veel organische verbindingen op zich al een probleem, omdat deze met de beschikbare detectieapparatuur (nog) niet kunnen worden geanalyseerd. Los van het feit dat de chemische monitoring van alle, potentieel voorkomende verontreinigende stoffen nauwelijks haalbaar is, leveren resultaten van chemische analyses geen informatie over:

- interacties tussen verontreinigende stoffen - omdat het in oppervlaktewateren meestal om mengsels van verschillende typen verbindingen gaat, kan combinatietoxiciteit optreden of kunnen er chemische interacties tussen de stoffen bestaan;
- risico's van de aangetroffen verontreinigingen voor het ecosysteem - gegevens over de toxiciteit zijn van slechts een beperkt aantal verbindingen bekend, evenals informatie over opname, verspreiding, afbraak e.d.; op grond van chemische gegevens is de vraag 'Hoe gezond is dit watersysteem' dus niet te beantwoorden.

Gezien de hierboven geschetste problemen met betrekking tot de chemische monitoring van verontreinigende stoffen, bestaat er in toenemende mate behoefte aan het inzetten van biologische testsystemen om de aanwezigheid van probleemstoffen in het oppervlaktewater te kunnen beoordelen, zowel in Nederland (o.a.: Gezondheidsraad, 1994; Ministerie van Verkeer en Waterstaat, 1989 en 1995) in Europa (o.a. Commission of the European Communities, 1993; Villars, 1995; Zwart *et al.*, 1992; Zwart, 1995; Tonkes *et al.*, 1995) als in mondiaal verband (GESAMP, 1995).

Het onderzoek naar biologische technieken om de waterkwaliteit te beoordelen heeft de laatste jaren een enorme vlucht genomen. Daarbij gaat de aandacht vooral naar de ontwikkeling van actieve biomonitoringstechnieken (zie 1.2 en begrippenlijst voor begrippenkader en definities), zoals toxiciteitstesten (bioassays) en biologische bewakingssystemen (Biological Early Warning Systems: BEWS). Uit het inventarisatierapport (STOWA, 1997) blijkt dat er inmiddels zeer veel testen en meetsystemen beschikbaar zijn. Het is echter nog niet voor alle specifieke situaties bekend welke techniek(en) het beste kan (kunnen) worden ingezet.

Bij de Nederlandse waterbeheerders bestaat een grote behoefte aan praktische, biologische testsystemen voor het beoordelen van de actuele kwaliteit van het oppervlaktewater. Om aan deze behoefte tegemoet te komen is één van de door de STOWA geëntameerde projecten, van het in 1995 gestarte onderzoeksprogramma gericht op de biologische monitoring van verontreinigingen in watersystemen.



## 1.2 Begrippenkader

### 1.2.1 Inleiding

Voor het begrip 'biologische monitoring' of kortweg 'biomonitoring' zijn veel definities gangbaar. Door de Coördinatie-Commissie voor Metingen in het Milieu (CCRX) wordt de volgende definitie gehanteerd: 'Monitoring van stoffen in plant en dier en de effecten van stoffen en andere antropogene factoren op het ecosysteem' (CCRX, 1994). Specifieker voor dit onderzoek is echter de volgende definitie: 'Stelselmatig gebruik maken van een biologische respons om (in het algemeen door de mens veroorzaakte) veranderingen in het milieu te detecteren met als doel het gebruiken van deze informatie voor waterkwaliteitsbeheer' (Rosenberg & Resh, 1993). De functie van biomonitoring is in dit geval het signaleren en controleren ten behoeve van concrete doelstellingen van het natuur- en milieubeleid (CCRX, 1994). Biomonitoring kan dan een rol spelen bij de volgende activiteiten (Zwart, 1995; Zwart & Trivedi, 1995):

#### *Signaleren:*

- monitoren van de (oppervlakte)waterkwaliteit en het waarnemen van trends in deze kwaliteit. Hierbij kan gebruik worden gemaakt van een stofgerichte en/of effectgerichte benadering of een combinatie van beiden;
- monitoren van de stroom (mass flow) van verontreinigingen in oppervlaktewater en effluenten;
- detecteren van, en vroeg alarmeren (early warning) bij de aanwezigheid van verontreiniging(en);

#### *Controleren:*

- beoordelen of voldaan wordt aan de gestelde normen voor de waterkwaliteit.

### 1.2.2 Typen biomonitoring

Afhankelijk van de activiteit (doelstelling) wordt gebruik gemaakt van een (of een combinatie) van de volgende vier typen van biomonitoring:

- I *bioaccumulatiemonitoring*: het meten/detecteren van chemische stoffen in biologisch materiaal;
- II *toxiciteit- of effectmonitoring*: het meten/detecteren van de directe (biologische) respons van individuen op toxicanten. Dit omvat bioassays (in het laboratorium of in het veld), biologische bewakingssystemen (biomontoren), maar ook waargenomen effecten in het veld, zoals het optreden van massale vissterfte e.d.;
- III *ecosysteemmonitoring*: het meten van de integriteit van levensgemeenschappen en ecosysteemprocessen. Dit omvat inventarisaties van de soortensamenstelling, dichtheid, diversiteit, aanwezigheid van indicatorsoorten, ecologische indices etc.;
- IV *mutageniteitmonitoring*: het beoordelen van het oppervlaktewater op de aanwezigheid van mutagene of genotoxische stoffen.

Verder kan een onderverdeling worden gemaakt in *actieve* en *passieve* monitoring. Van *actieve* monitoring is sprake wanneer gebruik wordt gemaakt van een experimentele opstelling. Deze kan worden gebruikt in het veld en/of in het laboratorium. In het laatste geval wordt een monster van het te monitoren oppervlaktewater getransporteerd naar het laboratorium. Van *passieve* monitoring is sprake wanneer uitsluitend gebruik wordt gemaakt van de in het veld aanwezige organismen zonder daarbij gebruik te maken van een van tevoren geïntroduceerde experimentele opstelling.

In het inventarisatierapport worden verder nog enige voorbeelden genoemd van de hierboven beschreven biomonitoringstypen (zie tabel 1, STOWA, 1997) en wordt verder ingegaan op de term '*biologische respons*' (zie tabel 2, STOWA, 1997).



## Typen actieve biomonitoring

### *Continue en semi-continue technieken (biologische bewakingssystemen):*

De ontwikkeling van biologische bewakingssystemen voor actieve biomonitoring in grote wateren is in versnelling geraakt na het 'Sandoz-Rijn-ongeval' in 1986. Biologische bewaking wordt zowel toegepast in oppervlaktewater als effluenten. In Nederland vindt praktische toepassing ervan vooral plaats bij (semi)overheidsinstanties. Zo wordt de kwaliteit van het Rijn- en Maaswater bij binnenkomst in ons land voortdurend beoordeeld met biologische bewakingssystemen. Tot nu toe wordt hiervoor bij de Rijkswaterstaat meetstations van Lobith (Rijn) en Eijsden (Maas) gebruik gemaakt van systemen met vissen en watervlooien (DBW/RIZA, sine anno).

In biologische bewakingssystemen wordt op geautomatiseerde wijze de fysiologische - of gedragstoestand gemeten van specifieke organismen. Hiervoor worden de organismen zowel in *doorstroom-* ('flow-through') als *statische* (periodieke inname van oppervlaktewater of effluent) systemen respectievelijk *continu* of *semi-continu* aan het water blootgesteld. Plotselinge veranderingen in de water- of effluentkwaliteit worden gedetecteerd doordat een bepaalde (mate van) biologische respons optreedt. Wanneer deze respons teveel afwijkt van de 'normale toestand', wordt een *alarm-* of *drempelwaarde* overschreden en wordt een alarmsignaal afgegeven. In vrijwel alle biologische bewakingssystemen bevindt zich een computer die de meetwaarden registreert en verwerkt. Veel systemen beschikken ook over een mogelijkheid om de meetgegevens via een *on-line* verbinding naar een centrale computer door te geven. Hierdoor kunnen de meetgegevens (van bijvoorbeeld meerdere systemen) uit het veld direct op één centrale plaats worden verwerkt en geïnterpreteerd.

Omdat biologische bewakingssystemen (vrijwel) *direct* reageren op plotselinge veranderingen in de waterkwaliteit worden ze in het Engels aangeduid met de term 'Biological Early Warning Systems' (BEWS). Niet voorziene lozingen of andere calamiteiten kunnen met behulp van deze technieken tijdig worden opgemerkt zodat directe acties mogelijk zijn om effecten zoveel mogelijk te voorkomen of te beperken. Een alarmsignaal vormt in de meeste gevallen de aanleiding tot een nader onderzoek naar de werkelijke oorzaak van het alarm. Als deze wordt gevonden kan dat bijvoorbeeld leiden tot een verbod op lozingen door bepaalde bedrijven of instituten. Biologische bewakingssystemen worden daarom toegepast in de buurt van lozingspunten of nabij innamepunten van ruw water voor de bereiding van drinkwater of voor proceswater. De systemen kunnen bijvoorbeeld ook worden toegepast bij inlaatpunten voor boezemwater.

Juist in oppervlaktewater is sprake van een mengsel van vele stoffen, waaronder toxische. Het afzonderlijk meten van al deze stoffen op fysisch-chemische wijze is niet mogelijk. Omdat ieder organisme specifiek gevoelig is voor bepaalde stoffen of stofgroepen is het ook niet mogelijk om met slechts één biologisch bewakingssysteem de kwaliteit van het oppervlaktewater betrouwbaar te bewaken. Dit is ook een van de conclusies uit een grootschalig Duits onderzoek (uitgevoerd door de projectgroep 'Wirkungstests Rhein') waarin ca. 20 bestaande bewakingssystemen met behulp van o.a. bacteriën, algen, watervlooien, mosselen en vissen werden geëvalueerd op een groot aantal criteria (Bund/Länder-Projektgruppe 'Wirkungstests Rhein', 1995). De evaluatie wees uit dat alleen als een *testbatterij* van tegelijkertijd werkende technieken (gebaseerd op verschillende soorten en biologische responstypen) wordt ingezet een brede range van toxicanten kan worden gedetecteerd.

### *Discontinue technieken (lab- en veldbioassays)*

Continue biologische bewaking is zinvol bij wateren die in kort tijdsbestek sterk in kwaliteit kunnen wisselen en waar een permanente 'vinger aan de pols' gewenst is. Wanneer dit niet het geval is, of wanneer dit vanwege de relatief hoge kosten niet haalbaar of verdedigbaar is, kunnen *discontinue* technieken worden gebruikt. Discontinue technieken betreffen biomonitoringstechnieken waarbij in een bepaalde periode de kwaliteit van het water (oppervlaktewater, poriewater of effluent) éénmalig wordt beoordeeld (bijvoorbeeld 1 maal per



maand of kwartaal). Hiervoor kunnen testorganismen zowel in het laboratorium (lab-bioassay) of in het veld (veldbioassay) worden blootgesteld aan het water. Met lab-bioassays wordt de actuele waterkwaliteit op één bepaald tijdstip beoordeeld, namelijk op het tijdstip van de bemonstering. Bij veldbioassays worden organismen gedurende een bepaalde tijd (bijv. 1 week) in het veld blootgesteld. Aangezien meestal alleen aan het einde van deze periode naar het effect van deze blootstelling wordt gekeken, is hier geen sprake van een continue techniek. Het resultaat van een veldbioassay zegt iets over de gemiddelde kwaliteit van het water gedurende de blootstellingsperiode. Plotselinge verslechtingen in de waterkwaliteit worden wel gedetecteerd, maar het is niet mogelijk om aan te geven wanneer deze optrad. Zo kunnen in de veldbioassay met watervlooiën de organismen aan het begin van de blootstellingsperiode sterven, bijvoorbeeld als gevolg van een plotseling hoge concentratie dichloorvos. Het is mogelijk dat dichloorvos aan het einde van de periode niet meer (in verhoogde mate) chemisch kan worden gedetecteerd. Wanneer niet continu chemisch wordt gemonitord, wat vrijwel altijd het geval is, kan zowel het tijdstip als de directe oorzaak van de sterfte niet meer aannemelijk worden gemaakt.

### 1.3 Doelstelling van het project

De doelstelling van het project 'Biomonitoringstechnieken voor bestrijdingsmiddelen en zware metalen in watersystemen' is het ontwikkelen van een keuzesysteem waarmee waterbeheerders voor specifieke situaties technieken kunnen selecteren (en toepassen) voor de biologische monitoring van bestrijdingsmiddelen en zware metalen in oppervlaktewateren. Het keuzesysteem richt zich op het toepassen van technieken waarmee directe effecten van verontreinigingen kunnen worden aangetoond en waarmee dus een *actuele risicobeoordeling* mogelijk is.

Er is naar gestreefd een keuzesysteem te ontwikkelen dat bij de volgende monitoringactiviteiten (zie 1.2) kan worden ingezet:

- monitoren van de actuele waterkwaliteit en het waarnemen van trends in deze kwaliteit,
- detecteren van en vroeg alarmeren bij de aanwezigheid van verontreiniging(en),
- en (in de toekomst) beoordelen of voldaan wordt aan de gestelde normen voor de waterkwaliteit.

Het resultaat van dit project bestaat uit twee deelrapporten. Het eerste deel, het *inventarisatierapport*, betreft de resultaten van een inventarisatie van bruikbare testen en technieken, alsmede de resultaten van een onder de regionale waterkwaliteitsbeheerders gehouden enquête, waarin de ervaringen en wensen met betrekking tot de biomonitoring van zware metalen en bestrijdingsmiddelen zijn geïnventariseerd (STOWA, 1997). Het tweede, voorliggende deel, bevat het eigenlijke keuzesysteem. Verder worden in dit rapport de resultaten geëvalueerd van de gedeeltelijke toepassing van het keuzesysteem op een aantal praktijklocaties.

### 1.4 Leeswijzer

Hoofdstuk 2 bevat een samenvatting van de resultaten van het inventarisatieonderzoek, waarbij tevens de selectiecriteria aangegeven zijn waarmee de tien in het keuzesysteem opgenomen actieve biomonitoringstechnieken zijn geselecteerd. Daarnaast is aangegeven op welke wijze aanvullende informatie verkregen is met betrekking tot de gevoeligheid van de 10 technieken voor bepaalde stoffen.

In hoofdstuk 3 worden de tien geselecteerde technieken kort besproken. Verder wordt aangegeven op welke wijze de standaard uitvoering van de lab-bioassays is gemodificeerd om tot een hogere kosten-effectiviteit en gevoeligheid te komen. Voor een gedetailleerde beschrijving van deze technieken wordt naar de verschillende bijlagen verwezen.



In hoofdstuk 4 wordt het eigenlijke keuzesysteem gepresenteerd en is de onderbouwing ervan weergegeven. Ook de randvoorwaarden, die door de verschillende waterbeheerders aan een dergelijk systeem gesteld zijn, worden in dit hoofdstuk beschreven.

Hoofdstuk 5 bevat de resultaten van een aantal verschillende onderzoeken, waarbij een gedeelte van het voorgestelde keuzesysteem in de praktijk is getoetst. Hierbij is een onderscheid gemaakt tussen de praktijkmonitoring van respectievelijk metalen en bestrijdingsmiddelen.

Het tekstuele deel van het rapport wordt afgesloten met de discussie, conclusies en aanbevelingen (hoofdstuk 6), waarna een begrippenlijst (7), de literatuurverwijzingen (8) en de bijlagen dit rapport completeren.

Achter de bijlagen zijn de keuzesystemen, zoals weergegeven in hoofdstuk 4, als uitklapversie opgenomen.

## 2 INVENTARISATIE-ONDERZOEK

### 2.1 Doel en uitvoering

Alvorens het keuzesysteem samen te kunnen stellen is geïnventariseerd welke biomonitoringstechnieken op dit moment (medio 1996) beschikbaar zijn. Hierbij is gebruik gemaakt van een literatuur- en database-onderzoek naar de bestaande biomonitoringstechnieken. Daarnaast is er tijdens het inventarisatie-onderzoek een enquête onder de Nederlandse regionale waterkwaliteitsbeheerders gehouden, waarin gevraagd is naar hun ervaringen (aangevuld met ervaringen van overige instanties in Nederland) en wensen met betrekking tot de biomonitoring van zware metalen en bestrijdingsmiddelen in het oppervlaktewater. In dit inventarisatie-onderzoek is onderscheid gemaakt tussen *passieve* en *actieve* biomonitoringstechnieken (zie begrippenlijst) en is de aandacht vooral gericht op de monitoring van effecten van zware metalen en bestrijdingsmiddelen.

Tijdens het inventarisatie-onderzoek bleek dat het lastig is om met behulp van passieve biomonitoringstechnieken een directe relatie met de aanwezigheid van specifieke toxicanten te leggen. In overleg met de begeleidingscommissie is daarom besloten om voor het opstellen van het keuzesysteem alleen uit te gaan van actieve biomonitoringstechnieken en de geïnventariseerde passieve monitoringstechnieken (101 in totaal) niet verder uit te werken. In het inventarisatierapport (STOWA, 1997) wordt daarom volstaan met een algemene overzichtstabel van deze passieve beoordelingstechnieken.

### 2.2 Beschikbare actieve biomonitoringstechnieken

De informatie die in het inventarisatie-onderzoek is verkregen, is verwerkt in een spreadsheet, waarbij per techniek de volgende gegevens, voor zover beschikbaar, zijn opgenomen (deze spreadsheet is op diskette verkrijgbaar bij de STOWA):

- Met betrekking tot de *technieken* is o.a. informatie opgenomen over: type monitoring, doelstelling monitoring, (semi)continu of discontinu systeem, toepassingsgebied, opzet, praktische inzetbaarheid, reproduceerbaarheid, wijze van interpretatie resultaten en kosten;
- Met betrekking tot de *organismen* is o.a. informatie opgenomen over: soortnaam, biologisch integratieniveau (cel/individu/populatie), trofisch niveau, effectparameter, zoet- of zoutwaterorganisme, gevoeligheid voor specifieke stoffen, randvoorwaarden en milieuomstandigheden;
- Informatie over wie (met de nadruk op Nederland) *gebruik* maakt, of ooit heeft gemaakt, van de betreffende techniek.

De inventarisatie van actieve biomonitoringstechnieken heeft geresulteerd in 116 verschillende technieken. Het merendeel van deze 116 technieken (90%) betreft technieken voor toxiciteit- of effectmonitoring. Hiervan maken de lab-bioassays het grootste deel uit (58%), gevolgd door de biologische bewakingssystemen (38%) en tenslotte de veldbioassays (4%). De drie andere onderscheiden monitoringtypen, te weten bioaccumulatie-, mutageniteit- en ecosysteemmonitoring vormden respectievelijk 4, 4 en 2% van het totaal aantal technieken. Naast deze indeling naar monitoringtype zijn de technieken ook ingedeeld naar het trofieniveau van het te gebruiken organisme (producent, consument, destruent). Hieruit blijkt, dat het merendeel van de technieken gebruik maakt van consumenten (55%), gevolgd door de destruenten ('afbraakorganismen', 32%), terwijl slechts 13% van het totaal aantal technieken betrekking heeft op producenten.



## 2.3 Algemene ervaringen waterkwaliteitsbeheerders met actieve biomonitoring

Actieve biomonitoringstechnieken worden tot nu toe nog beperkt toegepast door de waterkwaliteitsbeheerders (zie STOWA, 1997). De waterkwaliteitsbeheerders die hiervan gebruik maken vinden het nodig om biomonitoringstechnieken in te zetten naast, of (uit kosten oogpunt) in plaats van chemische analyses omdat een beoordeling op basis van uitsluitend chemische analyse te beperkt is en wel om een of meer van de volgende redenen:

- Routinematig wordt slechts een beperkt deel van de aanwezige verontreinigende stoffen (toxicanten) gemeten. Afbraakproducten, die mogelijk nog toxischer zijn, worden niet gemeten;
- Er kan slechts een beperkte inschatting worden gemaakt van:
  - de daadwerkelijk voor opname door organismen beschikbare hoeveelheid toxicant;
  - de gecombineerde inwerking van meerdere stoffen tegelijk (combinatietoxiciteit);
- Voor een deel van de (organische) verbindingen zijn (nog) geen voldoende gevoelige analysetechnieken beschikbaar.

Met behulp van biomonitoringstechnieken is een meer integrale (biologische) beoordeling mogelijk en worden de genoemde tekortkomingen deels ondervangen. Daarnaast spreken de resultaten van biomonitoringstechnieken in het algemeen (bij het bestuur en bij het grote publiek) vaak meer tot de verbeelding dan de resultaten van chemische analyses.

## 2.4 Selectie van technieken voor het keuzesysteem

Om het keuzesysteem uitvoerbaar, en dus toepasbaar te houden, is in overleg met de begeleidingscommissie besloten om uit de 116 verschillende actieve biomonitoringstechnieken maximaal 10 technieken als basis voor het keuzesysteem te selecteren. Hieronder vallen zowel toxiciteitstesten (lab- of veldbioassays) als biologische bewakingssystemen (biomontoren). Deze selectie is gerealiseerd door het toepassen van drie selectieronden, die schematisch als volgt zijn weer te geven:

Ronde	Selectie criteria	Aantal technieken
begin		116
1	(1) 'er is ervaring met deze techniek in Nederland' <u>ó</u> f (2) 'de techniek is nieuw, maar wordt als veelbelovend aanbevolen'	116 → 31
2	Bioassays (1) 'betrouwbaarheid' (2) 'gevoeligheid' (3) 'kosten-effectiviteit' (4) 'uitvoerbaarheid' (5) 'eenduidig' (6) 'toepasbaar'  Biologisch bewakingssysteem (1) selectie gebaseerd op de door de projectgroep 'Wirkungstests Rhein' (Bund/Länder-Projektgruppe 'Wirkungstests Rhein', 1995) aanbevolen technieken	31 → 21
3	(1) streven naar een testbatterij met minimaal één producent, destruent en consument (2) toxiciteit- of effectgericht	21 → 10



Hierna worden de selectieronden en de daar toegepaste criteria verder toegelicht.

#### 2.4.1 Eerste selectieronde

Uit de 116 geïnventariseerde actieve biomonitoringstechnieken (zie 2.2) is een eerste selectie gemaakt van de meest bruikbare technieken. Technieken die hierbij zijn geselecteerd voldoen aan het criterium (1): 'er is ervaring met deze techniek in Nederland'. Dat wil zeggen dat de techniek of test wordt, of ooit is gebruikt door een Nederlandse waterbeheerder, of door een andere instantie in Nederland. Hierbij zijn technieken waarbij eerst gebruik is gemaakt van een techniek om het oppervlaktewater te concentreren (bijvoorbeeld met behulp van XAD-hars) buiten beschouwing gelaten omdat de toepassing van dit soort technieken in combinatie met (eco)toxiciteitmetingen nog volop in ontwikkeling is (bijvoorbeeld bij RIVM, RIZA en KIWA). Deze technieken zijn dus op dit moment nog niet geschikt voor algemene, routinematige toepassing door de waterkwaliteitsbeheerders. Deze selectie is vervolgens aangevuld met technieken die voldoen aan het tweede criterium (2): 'de techniek is nieuw, maar wordt als veelbelovend aanbevolen in (inter)nationale review publikaties'. Op grond van criterium 1 en 2 zijn in de eerste selectieronde 31 actieve biomonitoringstechnieken geselecteerd. Een samenvattend overzicht van deze technieken is weergegeven in het inventarisatierapport (zie tabel 5, STOWA, 1997). Verder is in het inventarisatierapport ook een beknopte beschrijving van deze technieken gegeven (zie hoofdstuk 3, STOWA, 1997).

#### 2.4.2 Tweede selectieronde

Bij de tweede selectie is een groot belang gehecht aan de resultaten van de enquêtes en interviews, waarin de ervaringen en wensen van de waterkwaliteitsbeheerders met betrekking tot de biomonitoring van zware metalen en bestrijdingsmiddelen zijn geïnventariseerd. Door deze beheerders zijn als belangrijkste selectiecriteria genoemd: (1) 'betrouwbaarheid' (moet werken en reproduceerbaar zijn), (2) 'gevoeligheid' (stof- en stofgroepspecifiek), (3) 'kosten-effectiviteit' (goede kosten baten-verhouding), (4) 'uitvoerbaarheid' (eenvoudig en routinematig toepasbaar), (5) 'eenduidig' (goed interpreteerbaar) en (6) 'toepasbaar' (wat zijn de beperkingen?). Alleen de min-of-meer 'vergelijkbare' technieken (bijvoorbeeld lab-bioassays gebruik makend van organismen van hetzelfde trofische niveau) zijn direct met elkaar vergeleken op basis van deze selectiecriteria.

De selectie van biologische bewakingssystemen (biomonitoren) is met name gebaseerd op de door de projectgroep 'Wirkungstests Rhein' (Bund/Länder-Projektgruppe 'Wirkungstests Rhein', 1995) aanbevolen technieken. Voor de bioaccumulatietesten en voor de veldbioassays is de keuze beperkt. Derhalve zijn alle reeds in de eerste selectie opgenomen technieken ook in deze tweede selectieronde meegenomen.

Deze tweede selectieronde reduceerde het aantal geselecteerde technieken van 31 tot 21. Een samenvattend overzicht van deze technieken is weergegeven in het inventarisatierapport (zie tabel 12, STOWA, 1997).

#### 2.4.3 Derde selectieronde

Om te komen tot maximaal 10 monitoringstechnieken zijn de 21 overgebleven technieken uit tweede selectieronde onderworpen aan een derde en laatste selectieronde. Belangrijk criterium in deze selectieronde is dat per type systeem is gestreefd naar het samenstellen van een *testbatterij* van technieken die gebruik maakt van verschillende soorten organismen. Hiernaar is gestreefd om ook te kunnen monitoren in situaties waar sprake is van mengsels van vele verschillende stoffen (in sterk wisselende concentraties). Van Straalen & Verkleij (1991) en Van Straalen & van Gestel (1993) bevelen aan om voor een testbatterij, testorganismen te selecteren die taxonomisch zo ver mogelijk van elkaar af staan en/of soorten te selecteren die op een verschillende manier hun



voedsel verwerven (*verschillende trofische niveaus*). Dit omdat wordt aangenomen dat verwante soorten en/of soorten van één trofisch niveau wat betreft gevoeligheid op elkaar lijken. Om deze redenen wordt getracht om een testbatterij samen te stellen waarin minimaal één organisme uit elk van de volgende drie trofische niveaus aanwezig is: producent, destruent en consument. Verder waren de selectiecriteria in de derde selectieronde als volgt:

- De techniek is toxiciteit- of effectgericht;
- De techniek is geschikt voor het monitoren van zoet oppervlaktewater;
- Bij zeer vergelijkbare lab- en veldbioassays is gekozen voor de techniek waarmee de meeste ervaring is opgedaan;
- De selectie van biologische bewakingssystemen is gebaseerd op de aanbevelingen van de projectgroep 'Wirkungstests Rhein'.

Het toepassen van deze criteria levert de selectie van 10 technieken op zoals weergegeven in tabel 1. Deze tien technieken zijn de basis voor het keuzesysteem en worden in meer detail besproken in hoofdstuk 3 en de bijlagen 1 t/m 10.

**Tabel 1** Geselecteerde tien technieken ten behoeve van het keuzesysteem.

Trofisch niveau	Testbatterij		
	Lab-bioassays (screeningstesten):	Veldbioassays:	Biologische bewakingssystemen:
producent	Acute algentest	Kroostest	DF-Algentest
destruent	Acute bacterietest	_*	_*
consument	Acute watervlooiertest	Watervlooiën veldbioassay	Dynamische Daphniatest
	Rotokit F	Muggelarve veldbioassay	Mosselmonitor

\*: Op dit moment is het nog niet mogelijk om hiervoor een techniek aan te bevelen.

## 2.5 Aanvulling van toxiciteitgegevens voor de geselecteerde technieken

Om locatiespecifiek te kunnen beoordelen met welke actieve biomonitoringstechniek(en) potentieel toxiciteit detecteerbaar is, is het nodig om per techniek een zo volledig mogelijk beeld te hebben van de specifieke gevoeligheid van de testorganismen voor (in elk geval) de meest problematische metalen en bestrijdingsmiddelen (zie inventarisatierapport, tabel 11, STOWA, 1997). Voor de 10 geselecteerde technieken is derhalve gezocht naar aanvullende toxiciteitdata. Bij het zoeken naar toxiciteitwaarden is telkens geselecteerd op de *laagste* waarde voor de betreffende techniek en daarbij is, voor zover mogelijk, steeds gekozen voor een vergelijkbaar eindpunt (bij voorkeur EC<sub>50</sub>) blootstellingsduur (bijvoorbeeld 72 uur voor de acute algentest) en testsoort (meest gebruikte, bijvoorbeeld *Daphnia magna* voor de acute watervlooiertest).

Voor aanvullende toxiciteitgegevens (met name voor bestrijdingsmiddelen) is gezocht in review-rapporten en -artikelen. De belangrijkste gebruikte bronnen zijn: de RIZA-watersysteemverkenningen voor fenolherbiciden (Ordelman *et al.*, 1994a), triazinen (Ordelman *et al.*, 1993a), dithiocarbamaten (Ordelman *et al.*, 1993b), carbamaten (Ordelman *et al.*, 1993c), en organofosforbestrijdingsmiddelen (Ordelman *et al.*, 1994b), het Handboek Bestrijdingsmiddelen (van Rijn *et al.*, 1992), het Microtox-data handboek (Kaiser & Devillers, 1994) en het RIVM-rapport 'Pesticides: Benefaction or Pandora's Box?' (Linders *et al.*, 1994). Daarnaast is via het College Toelating Bestrijdingsmiddelen (CTB) informatie (o.a. milieu-fiches) opgevraagd over de 'top 6' pesticiden (carbendazim, malathion, diuron, parathion-ethyl, dichloorvos en



chloorfenvinfos). Voor data met betrekking tot de specifieke gevoeligheid van kroos en algen is gebruik gemaakt van twee artikelen (Retzlaff, 1993; Grossmann *et al.*, 1992) waarin toxiciteitdata voor 32 herbiciden zijn beschreven. Tenslotte is in het databestand DATATOX (Murphy & Balogh, 1993) voor diuron en carbendazim naar toxiciteitdata gezocht omdat hiervoor nog te weinig informatie in de genoemde bronnen beschikbaar was. De resultaten van deze zoekactie zijn verwerkt in de samenvattende overzichten per stofgroep van de (laboratorium)gevoeligheid van iedere techniek voor een bepaalde stof. Deze overzichten zijn weergegeven in de volgende bijlagen:

- Bijlage 11      Stoffeninformatie 1: Overzicht van de gevoeligste technieken per stof
- Bijlage 12      Stoffeninformatie 2: Overzicht van de lab-bioassays
- Bijlage 13      Stoffeninformatie 3: Overzicht van de veldbioassays
- Bijlage 14      Stoffeninformatie 4: Overzicht van de biologische bewakingssystemen

Het in bijlage 11 weergegeven overzicht geeft naast de laagste waarde per groep van technieken (lab-bioassays, veldbioassays en biologische bewakingssystemen) ook de laagste waarde over alle technieken tezamen. Daarnaast wordt de (handels)naam van de betreffende techniek gegeven en is weergegeven voor hoeveel technieken uit die groep (n) een toxiciteitwaarde is gevonden. Uit de in bijlagen 12-14 weergegeven stoffeninformatie blijkt dat de toxiciteitgegevens wat betreft de pesticiden vooral voor de lab-bioassays (alg, bacterie, watervlo, met uitzondering van Rotokit) wezenlijk konden worden aangevuld met 'goede waarden' (relevante soort, eindpunt en blootstellingsduur).

Voor de kroostest zijn een aantal bruikbare data voor herbiciden gevonden. Deze data zijn echter afkomstig van lab-bioassays en moeten derhalve als indicatief worden gezien. Voor de watervlooiën veldbioassay zijn géén specifieke waarden gevonden. Hiervoor kan indicatief gebruik gemaakt worden van de waarden voor de acute watervlooiëntest. Ook voor veldbioassay met muggelarven zijn géén specifieke veldwaarden gevonden. De meeste waarden die zijn gevonden zijn afkomstig van lab-bioassays met diverse soorten muggelarven (*Chironomus*, *Culex* en *Aedes*) en, bij gebrek aan betere data, ook van andere water(bodem)insecten (hoofdzakelijk *Pteronarcys californica* en *Cloeon dipterum*). Om deze redenen moeten ook voor deze assay de weergegeven waarden als indicatief worden gezien.

Voor de biologische bewakingssystemen zijn géén nieuwe data gevonden, de uitvoering is te specifiek om data in 'review'-studies terug te kunnen vinden. De weergegeven data (bijlage 14) voor de (niet geselecteerde) vismonitor (Aqua-Tox-Control) zijn vrijwel allemaal afkomstig van lab-bioassays en moeten derhalve als indicatief worden gezien.

Samenvattend kan worden geconcludeerd dat er voor de lab-bioassays op dit moment een voldoende inzicht in de gevoeligheid voor specifieke metalen en bestrijdingsmiddelen is. Voor de veldbioassays en biologische bewakingssystemen is hierin nog onvoldoende inzicht. Aangezien het hier echter meestal gaat om zeer specifieke, recent toegepaste en nog niet (inter)nationaal gestandaardiseerde technieken, zal ook een intensievere zoekactie waarschijnlijk géén wezenlijke aanvulling van de toxiciteitgegevens opleveren. Voorgesteld wordt om voor deze technieken voorlopig uit te gaan van de 'indicatieve' toxiciteitwaarden voor de betreffende soorten, die uit acute lab-bioassays zijn verkregen.

Er kan echter worden aangenomen dat dit voor de veldbioassays een conservatieve schatting is en dat de werkelijke gevoeligheid van deze technieken in elk geval hieraan gelijk is, maar waarschijnlijk hoger. Deze verhoogde gevoeligheid wordt veroorzaakt doordat de testorganismen, in vergelijking met lab-bioassays, gedurende een langere periode worden blootgesteld. Tevens zorgt deze verlengde blootstelling voor een hogere trefkans indien de actuele concentraties in het veld fluctueren.

Ook van de biologische bewakingssystemen kan worden aangenomen dat de gevoeligheid zeker niet lager is dan die van de lab-bioassays, aangezien deze testen bij de beoordeling van andere,



gevoeligere parameters gebruik maken. Bij de DF-algentest wordt bijvoorbeeld naar een eventuele remming van een deelproces in de fotosynthese (fluorescentie) gekeken, en niet naar de remming van de populatiegroeisnelheid zoals in de acute algentest (lab-bioassay).

### 3 BESCHRIJVING GESELECTEERDE TECHNIEKEN

#### 3.1 Algemeen overzicht van de geselecteerde technieken

Van alle tien geselecteerde technieken is een gedetailleerde beschrijving gemaakt, waarbij onder andere aandacht wordt besteed aan de uitvoering, de randvoorwaarden en de geldigheidscriteria. Deze beschrijvingen zijn in de volgende bijlagen opgenomen:

- Bijlage 1: Acute algentest (lab-bioassay)
- Bijlage 2: Acute bacterie-test (lab-bioassay)
- Bijlage 3: Acute watervlooiëntest (lab-bioassay)
- Bijlage 4: Acute Rotoxkit F (lab-bioassay)
- Bijlage 5: Kroostest (veldbioassay)
- Bijlage 6: Watervlooien veldbioassay
- Bijlage 7: Muggelarve veldbioassay
- Bijlage 8: DF-Algentest (biologisch bewakingssysteem)
- Bijlage 9: Dynamische Daphniatest (biologisch bewakingssysteem)
- Bijlage 10: Mosselmonitor (biologisch bewakingssysteem)

Hierbij is per techniek de volgende onderverdeling aangehouden.

- A. Algemeen principe: bevat de algemene proefopzet en een verwijzing naar de genormeerde protocollen of richtlijnen (voor zover beschikbaar) volgens welke de technieken worden uitgevoerd. Daarnaast worden zaken als de te gebruiken testorganismen, de testduur en de effectparameter aangegeven.
- B. Bijzonderheden t.a.v. de uitvoering binnen dit project (toepassing in keuzesysteem): ten aanzien van de uitvoering binnen dit STOWA-project is bij een aantal technieken de standaard testmethode enigszins gemodificeerd (zie 3.2). Deze wijzigingen betreffen meestal het aantal replica's en het al dan niet gebruiken van een concentratiereeks.
- C. Randvoorwaarden t.a.v. een aantal fysische en chemische parameters: voor verschillende testorganismen is bekend, dat de waarden van een aantal fysisch-chemische parameters, zoals de pH, het zuurstofgehalte en de ammoniumconcentratie van directe invloed op het testresultaat kunnen zijn. Onder 'randvoorwaarden' wordt aangegeven binnen welke grenzen deze waarden zouden moeten liggen om aan te kunnen nemen, dat de betreffende parameters het testresultaat niet direct beïnvloeden.
- D. Geldigheidscriteria: de criteria waaraan de uitgevoerde test moet voldoen om het resultaat als 'geldig' te kunnen kwalificeren (dit is een voorwaarde voor een correcte beoordeling van de oppervlaktewaterkwaliteit).
- E. Beoordeling(s)criteriën: bevat de werkwijze die na afloop van de test wordt gevolgd om uitsluitel te kunnen geven over een 'toxisch' c.q. 'niet toxisch' effect.
- F. Toepassingsgebied en periode: bevat informatie over het type (water)monster waarvoor de betreffende techniek kan worden gebruikt. Tevens wordt voor de veldbioassays en biologische bewakingssystemen aangegeven of deze gedurende het gehele jaar inzetbaar zijn.



- G. Gevoeligheid: hier wordt de informatie, zoals weergegeven in de bijlagen met de stoffeninformatie, beknopt samengevat en wordt per techniek aangegeven voor welke stoffen en/of stofgroepen deze specifiek gevoelig is.
- H. Ervaring: hierin wordt aangegeven bij welke waterbeheerders ervaring met de betreffende techniek aanwezig is. Daarnaast zijn ook de eventuele kanttekeningen, die door de verschillende waterbeheerders bij een bepaalde techniek geplaatst werden, weergegeven.
- I. Beschikbaarheid en kosten: naast de eventuele leverancier, worden de kosten die voor de betreffende techniek gemaakt moeten worden globaal weergegeven. Hierbij wordt een onderscheid gemaakt tussen verbruiksmateriaal en de tijdsinvestering.
- J. Aandachtspunten: onder de 'aandachtspunten' zijn allerlei opmerkingen geplaatst, die bijvoorbeeld nuttig kunnen zijn bij het uitvoeren van de betreffende techniek of waar rekening mee moet worden gehouden bij het opzetten van het onderzoek.
- K. Referenties: per techniek zijn de relevante literatuurverwijzingen opgenomen, waarbij voor de complete referentie verwezen wordt naar de eigenlijke literatuurlijst (hoofdstuk 8).

Hieronder wordt voor de verschillende typen technieken nog enige aanvullende informatie gegeven, die vooral betrekking heeft op de 'betrouwbaarheid van' en 'ervaring met' de betreffende techniek. Hierbij spelen vooral zaken als de validatie van de techniek een rol.

### 3.2 Lab-bioassays

De vier geselecteerde lab-bioassays (acute algen-, bacterie-, watervlo- en Rotoxkit F-test) zijn goed gestandaardiseerd en gevalideerd zijn. Deze technieken zijn daarom direct toepasbaar bij het beoordelen van oppervlaktewater. Ten aanzien van de uitvoering binnen dit STOWA-project is de conventionele testmethode echter enigszins gewijzigd, om zo de kosten-effectiviteit te verhogen, zonder dat dit gevolgen heeft voor de kans op het detecteren van toxische effecten. Deze wijziging betreft het minimaliseren van het totaal aantal te testen behandelingen (=aantal concentraties x het aantal replica's), waardoor de hoeveelheid benodigde arbeidstijd bij het uitvoeren van de experimenten evenredig afneemt. Bij deze optimalisatie dient enerzijds rekening gehouden te worden met het doel van het onderzoek en anderzijds met de statistische gevoeligheid van de betreffende techniek. Dit wordt hieronder in meer detail uitgelegd.

Standaard worden met lab-bioassays minimaal 4-5 concentraties oppervlaktewater getest om zo een  $EC_{50}$ -waarde te kunnen bepalen. Om een onderscheid te kunnen maken tussen toxisch en niet toxisch oppervlaktewater, is het echter voldoende om aan te tonen dat blootstelling aan *onverdund* oppervlaktewater resulteert in een significant negatief effect t.o.v. een blanco en/of referentielocatie. Daarnaast is het meestal mogelijk om al bij minder dan 50% effect een significant verschil (= detectielimiet van de techniek) aan te tonen. Hierdoor kan, in vergelijking met een beoordeling op basis van de  $EC_{50}$ -waarde, mogelijke toxiciteit van het oppervlaktewater reeds aangetoond worden bij minder dan 50% effect. Deze detectielimiet van een techniek (de 'gevoeligheid') is echter direct afhankelijk van het aantal replica's, het aantal testdieren per replica en de mate van effect in de blancotest. Theoretisch is het zo dat bij een toenemend aantal replica's en/of een hoger aantal testdieren per replica, de 'statistische power' om een significant effect aan te tonen toeneemt (bijvoorbeeld significant effect bij 30% sterfte i.p.v. 40%). Om financiële en ethische redenen is het wenselijk om het aantal replica's en testdieren zo laag mogelijk te houden. De afweging tussen deze twee tegenstrijdige belangen kan gebaseerd worden op een statistische berekening:

Op basis van gegeven informatie over de historische variantie (standaarddeviatie) in het blancoresultaat en het gewenste verschil met de blanco dat gedetecteerd moet kunnen worden, kan



het aantal hiervoor te gebruiken replica's geschat worden. Hierbij wordt van de volgende formule (1) gebruik gemaakt (zie box 9.13 op blz. 263 van Sokal & Rohlf, 1981):

$$n \geq 2(\sigma/\delta)^2 \{t_{\alpha[v]} + t_{2(1-p)[v]}\}^2 \quad (1)$$

waarin:

- n = aantal benodigde replica's;
- $\sigma$  = standaarddeviatie van de betreffende parameter (in procenten);
- $\delta$  = het verschil dat gedetecteerd moet kunnen worden (in procenten);
- v = aantal vrijheidsgraden = a \* (n-1), waarbij a gelijk is aan het aantal groepen (in tabel 2 is uitgegaan van 2 groepen: de blanco groep en het te beoordelen monster);
- $\alpha$  = significantieniveau, de kans (meestal 0,05) op een vals negatieve (zie tekst) waarneming;
- 1-p =  $\beta$  = significantieniveau, de kans (meestal 0,20) op een vals positieve (zie tekst) waarneming;
- $t_{\alpha[v]}$  en  $t_{2(1-p)[v]}$  = testgrootheden afkomstig uit een tweezijdige t-tabel met v vrijheidsgraden en  $\alpha$  en  $2*\beta$ -waarden zoals hierboven aangegeven.

In verband met de praktische uitvoerbaarheid is het voor de meeste testen wenselijk dat het nieuwe, verhoogde aantal replica's bij voorkeur deelbaar is door het conventionele aantal. Hiermee wordt bedoeld dat wanneer de conventionele uitvoering drie replica's omvat, er nu gezocht wordt naar een situatie uitgaande van 6, 9, 12, 15 etc. replica's. Met behulp van (1) zijn daarom berekeningen uitgevoerd bij het oorspronkelijk aantal replica's en bij 2, 3, 4 en 5 maal dit aantal replica's. Op basis hiervan wordt een *indicatie* verkregen van het percentage verschil tussen de blanco en het te beoordelen monster, dat bij dat aantal replica's als 'significant' kan worden aangemerkt ( $\delta$ ). Deze statistische berekeningen zijn voor alle vier de geselecteerde lab-bioassays uitgevoerd, waarbij het aantal testdieren per replica gelijk is gehouden (tabel 2). Daarnaast is gekozen voor de (min of meer standaard) situatie, waarin de kans op een vals negatieve uitkomst ( $\alpha$ : significant effect in test terwijl dit er in werkelijkheid niet is) 5% is en de kans op een vals positieve ( $\beta$ : géén significant effect in test terwijl dit er in werkelijkheid wel is) 20% is.

**Tabel 2** Percentage verschil ( $\delta$ ) tussen een monster en de blanco dat theoretisch als significant vastgesteld kan worden (n = conventionele aantal replica's).

	historische $\sigma$ -waarden*	n	$\delta$ (%)				
			1 x n	2 x n	3 x n	4 x n	5 x n
Acute algentest	5,5	3	15-20	10	8	6-7	5-6
Acute bacterietest	12	2	60-70	25-30	20	15-20	15
Acute watervlooiëntest	27	4	60-70	40	30-35	25-30	25
Rotokit F	25	6	40-45	30	25	20	15-20

\*: gebaseerd op blancotestdata van AquaSense

Uit de berekeningen (tabel 2) komt een duidelijk verschil in statistische gevoeligheid naar voren tussen testen waarbij de testparameter elke waarde kan aannemen ('continue variabele', zoals de algentest en de bacterietest) en testen waarbij de testparameter alleen uit gehele waarden kan bestaan ('discontinue variabele', zoals sterfte in de watervlooiëntest en de Rotokit F-test). Dit betekent dat in theorie bij een vergelijkbaar aantal replica's een statistisch significant verschil tussen twee oppervlaktewatermonsters eerder in testen met een continue variabele (algentest en de bacterietest) zijn aan te tonen dan in testen, die gebaseerd zijn op een discontinue variabele (watervlooiëntest en de Rotokit F-test). Tenslotte dient te worden vermeld, dat de statistische gevoeligheid van een discontinue testparameter te verbeteren valt door het aantal testorganismen



per replica te verhogen. Aangezien hier echter een aantal praktische bezwaren aan zitten, is deze optie niet meegenomen.

Op basis van de uitkomsten van deze berekeningen en de praktische uitvoerbaarheid, is besloten om de lab-bioassays die tijdens de praktijktoetsing gebruikt zijn (zie hoofdstuk 5) met het volgende aantal replica's in te zetten.

Acute algentest:	6 replica's (2 x n)	ca. 10% verschil theoretisch aantoonbaar
Acute bacterietest:	5 replica's (2,5 x n)	ca. 25% verschil theoretisch aantoonbaar
Acute watervlooiëntest:	8 replica's (2 x n)	ca. 40% verschil theoretisch aantoonbaar
Rotokit F:	12 replica's (2 x n)	ca. 30% verschil theoretisch aantoonbaar

Voor de acute bacterietest is 2,5 maal het aantal conventionele replica's genomen omdat het meest praktische is om 10 testbuisjes (5 buisjes voor de blanco en 5 voor het monster) in een keer te testen.

### 3.3 Veldbioassays

Voor de drie geselecteerde veldbioassays geldt dat eigenlijk alleen de watervlooiën veldbioassay in voldoende mate gevalideerd is om direct inzetbaar te zijn. De kroostest en (vooral) de muggelarve veldbioassay dienen nog verder gestandaardiseerd, uitgetoetst en gevalideerd te worden. Hierom zijn deze laatste twee technieken niet meegenomen in de gedeeltelijke praktijktoetsing (zie hoofdstuk 5).

### 3.4 Biologische bewakingssystemen

Van de drie geselecteerde biologische bewakingssystemen dient de DF-Algentest in praktijksituaties aanvullend gevalideerd worden. De DF-Algentest wordt momenteel gevalideerd door het RIZA. De Dynamische Daphniatest en de mosselmonitor zijn daarentegen direct inzetbaar. Hierbij dient men zich te realiseren, dat een relatief grote inspanning (zowel financieel als qua personeel) benodigd is om deze biologische bewakingssystemen volledig operationeel te krijgen en te houden. Zo is, naar schatting van de Watertransportmaatschappij Rijn-Kennemerland (WRK), het operationeel houden van een drietal simultaan draaiende systemen (watervlo-, mossel- en vismonitor) alsmede het verwerken en analyseren van de meetresultaten een volledige dagtaak voor één persoon. De investeringskosten voor ieder systeem (voor mosselmonitor ca. f 35.000,- en voor de watervlo- en vismonitor ieder ca. f 75.000,-) zijn vergelijkbaar met de kosten voor sommige chemische analyseapparaten en dus, voor de WRK althans, zeer acceptabel.

De algemene ervaringen met biologische bewakingssystemen sinds 1988 zijn goed beschreven door Noppert & Hendriks (1995) en door Hendriks & Stouten (1994). Het aantal alarmmeldingen per jaar van biologische bewakingssystemen is vergelijkbaar met die van de chemische bewaking. Om de kans op een vals positief alarm te minimaliseren, wordt bij een biologisch alarm altijd een controle op technische storingen uitgevoerd. Vervolgens wordt het signaal gevalideerd middels chemische analyses en met behulp van lab-bioassays. In hooguit 10% van de alarmmeldingen worden stoffen geïdentificeerd in concentraties, die hoog genoeg zijn om het gevonden effect te kunnen verklaren. De praktijk leert dat de verantwoordelijke personen na de nodige gewenning bereid zijn om een biologisch alarm even serieus te behandelen als een chemisch alarm.



## 4 KEUZESYSTEEM

### 4.1 Randvoorwaarden voor een geschikt keuzesysteem

Het ontwikkelde keuzesysteem richt zich op het toepassen van biomonitoringstechnieken waarmee directe effecten van zware metalen en bestrijdingsmiddelen kunnen worden aangetoond (zie 1.3). Uit de enquêtes en interviews, waarin de ervaringen en wensen van de waterkwaliteitsbeheerders met betrekking tot de biomonitoring van zware metalen en bestrijdingsmiddelen zijn geïnventariseerd, kwam een aantal criteria naar voren waaraan de te selecteren technieken en het keuzesysteem zouden moeten voldoen (zie 2.4.2). De volgende criteria kunnen worden beschouwd als de belangrijkste randvoorwaarden waaraan het te ontwikkelen keuzesysteem dient te voldoen:

- Met het keuzesysteem moet zowel een locatie- als een stofgroepspecifieke beoordeling mogelijk zijn;
- De biomonitoringstechnieken moeten zo kosten-effectief mogelijk worden toegepast;
- Het keuzesysteem moet logisch zijn.

#### 4.1.1 Locatie- en stofgroepspecifiek

Sinds de schoonmaak die in 1970 begonnen is met de Wet Verontreiniging Oppervlaktewater, is de kwaliteit van het Nederlandse water aanzienlijk verbeterd. Een belangrijke beleidsvraag op dit moment is of een verhoging van het huidige kwaliteitsniveau nodig of zelfs gewenst is. In sommige gebieden zou een verdere verbetering namelijk enorme investeringen kunnen vragen. In dit soort gevallen kan, volgens de visienotitie 'Ruimte voor Water', een gebiedsgerichte benadering van watersystemen uitkomst bieden. De verwachting is dan ook dat de normering meer en meer zal worden toegesneden op het gebiedseigen karakter, waarbij de accenten op regionale differentiatie zullen komen te liggen (Berends *et al.*, 1995).

Een gebiedsgerichte beoordeling is voor de regionale waterbeheerders echter nog niet gedifferentieerd genoeg. Hun beheersvragen richten zich namelijk op een *lokaal niveau* (zie Van de Guchte *et al.*, 1996). De beheerder wil hierbij rekening kunnen houden met verschillen in ecotopen, watertype, -functies en -gebruik. Verder bestaat er behoefte aan een beoordeling die is gericht op de specifiek op de betreffende locatie voorkomende, problematische stoffen<sup>1</sup>. Er is dus behoefte aan een *locatiespecifiek én stofgericht* keuzesysteem, met nadruk op de diagnose. Op die manier kunnen oorzaak-gevolg relaties beter zichtbaar gemaakt worden.

#### 4.1.2 Kosten-effectief

In de visienotitie 'Ruimte voor Water' wordt aangedrongen op het denken in termen van rentabiliteit en draagvlak. Door keuzes te maken op grond van rentabiliteit krijgen innovaties eerder een kans en is het beheer beter uit te leggen aan de burger. De beschikbare gelden worden immers zo doordacht mogelijk geïnvesteerd en leveren het meeste effect (Berends *et al.*, 1995). Ook uit de interviews en enquêtes onder de regionale waterkwaliteitsbeheerders (zie 2.4.2) bleek dat hieraan een groot belang wordt gehecht. Kosten-effectiviteit is daarom een belangrijke randvoorwaarde voor een geschikt keuzesysteem.

---

<sup>1</sup> Een stof wordt als problematisch beschouwd als de grenswaarde of, indien deze (nog) niet geformuleerd is, een (indicatief) Maximaal Toelaatbaar Risiconiveau ((i)MTR-waarde) wordt overschreden (zie STOWA, 1997).



Kosten-effectiviteit is nagestreefd door (enkele) technieken te modificeren (zie 3.2) en door locatiespecifiek, op basis van de voorkomende probleemstoffen, te beoordelen welke technieken het beste kunnen worden ingezet.

#### 4.1.3 Logisch

Bij het implementeren van een nieuw ontwikkeld (keuze)systeem is de inzichtelijkheid van dit systeem van groot belang. In veel gevallen zullen de uiteindelijke beslissingen namelijk genomen worden door mensen, die niet van alle technische details op de hoogte (kunnen) zijn. De grote lijnen en de essentiële beslissingen moeten dus zo geformuleerd worden, dat iedereen deze kan volgen, en waardoor het systeem als 'logisch' ervaren wordt. Bij het opzetten van het keuzesysteem (vooral voor wat betreft de weergave in schema's) dient dus gelet te worden op zaken als eenduidigheid en toepasbaarheid, waarbij de integratie tussen de wetenschappelijke zorgvuldigheid en de kosten-effectiviteit duidelijk zichtbaar moet zijn. Voor het huidige keuzesysteem is dit onder andere nagestreefd door de te nemen beslissingen kort en bondig te formuleren, de hiervoor benodigde gegevens met aparte symbolen aan te geven en (indien mogelijk) dezelfde onderdelen op verschillende plekken te laten terugkomen.

### 4.2 Keuzesysteem

In figuur 1 en 2 worden achtereenvolgens het keuzesysteem voor het selecteren van biomonitoringtypen en het selecteren van toxiciteit- of effectmonitoringtechnieken weergegeven. Hierbij is ervan uitgegaan dat de keuze tussen actieve en passieve biomonitoring reeds is gemaakt (zie STOWA, 1997). De keuzesystemen zijn weergegeven als stroomschema's, waarbij gebruik is gemaakt van de gestandaardiseerde symbolen zoals weergegeven onder figuur 1. De onderbouwing van deze keuzesystemen is weergegeven in 4.3.

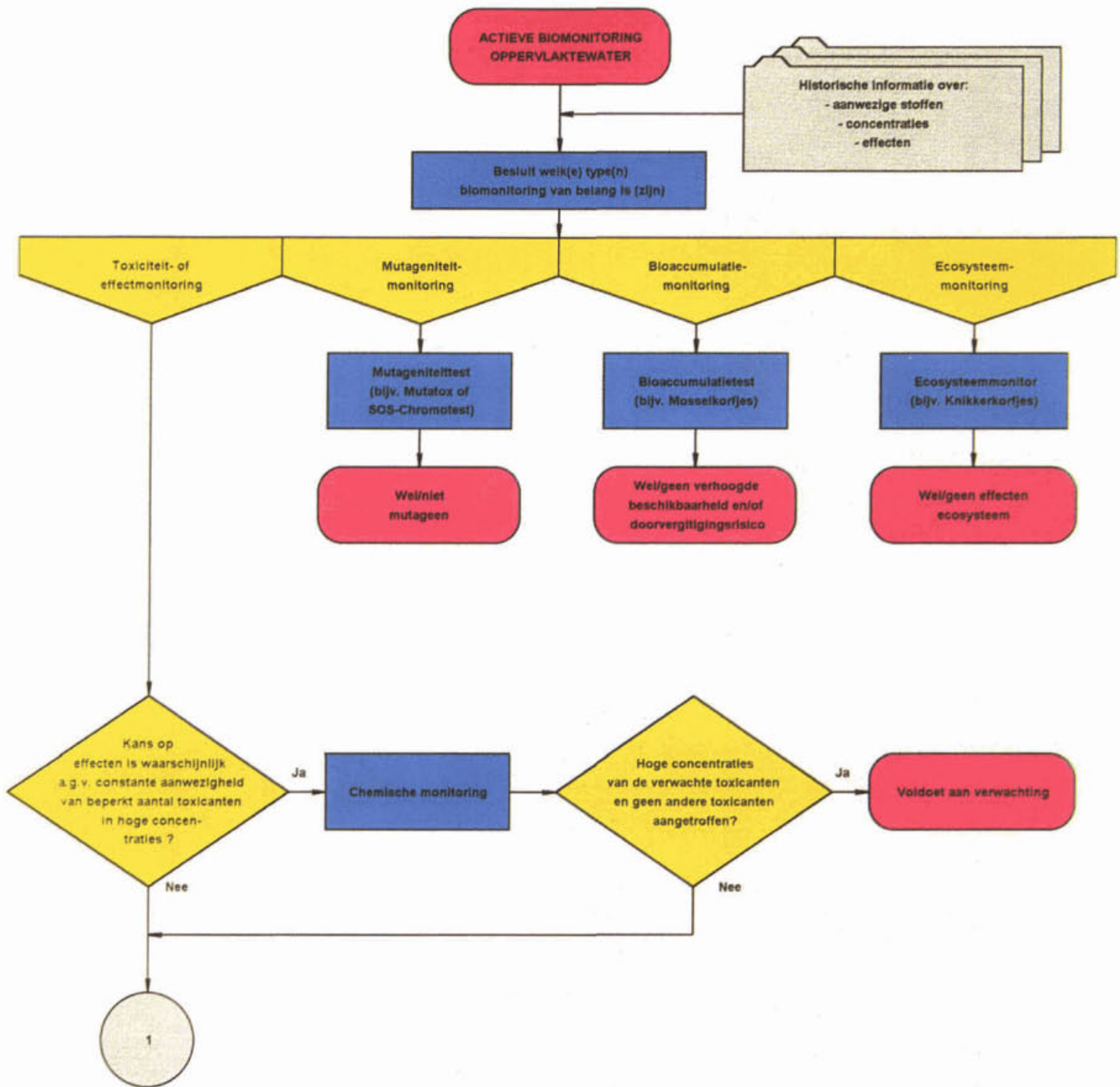
Deze keuzesystemen zijn *niet dwingend* doch bedoeld als handvaten om voor een specifieke verontreinigingssituatie biomonitoringstechnieken te kunnen selecteren. Andere benaderingswijzen worden hiermee dus niet gediskwalificeerd.

### 4.3 Onderbouwing keuzesysteem

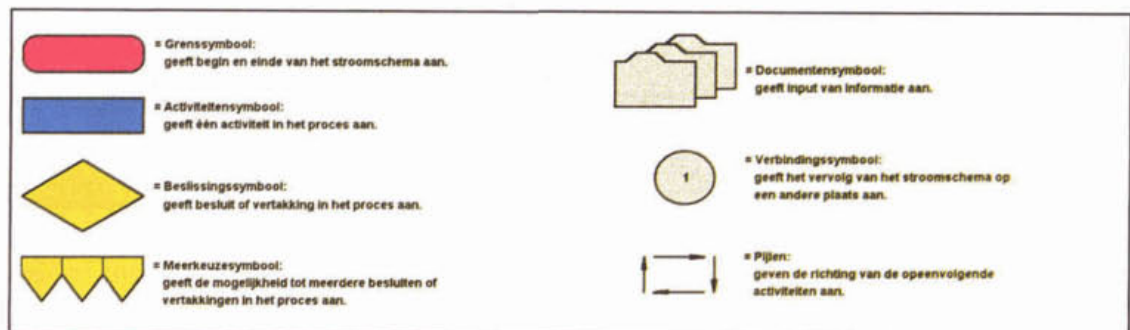
#### 4.3.1 Het type biomonitoring?

Het in figuur 1 weergegeven stroomschema begint met de selectie van de te gebruiken biomonitoringstype(n). Hierbij is aangegeven dat gebruik van historische informatie (voor zover beschikbaar) met betrekking tot bijvoorbeeld de aanwezige stoffen, hun concentraties en de theoretisch te verwachten effecten gewenst is. Men dient zich echter te realiseren, dat de keuze niet alleen door deze informatie bepaald wordt, aangezien ook het kostenaspect en eventuele politieke overwegingen een rol kunnen spelen.

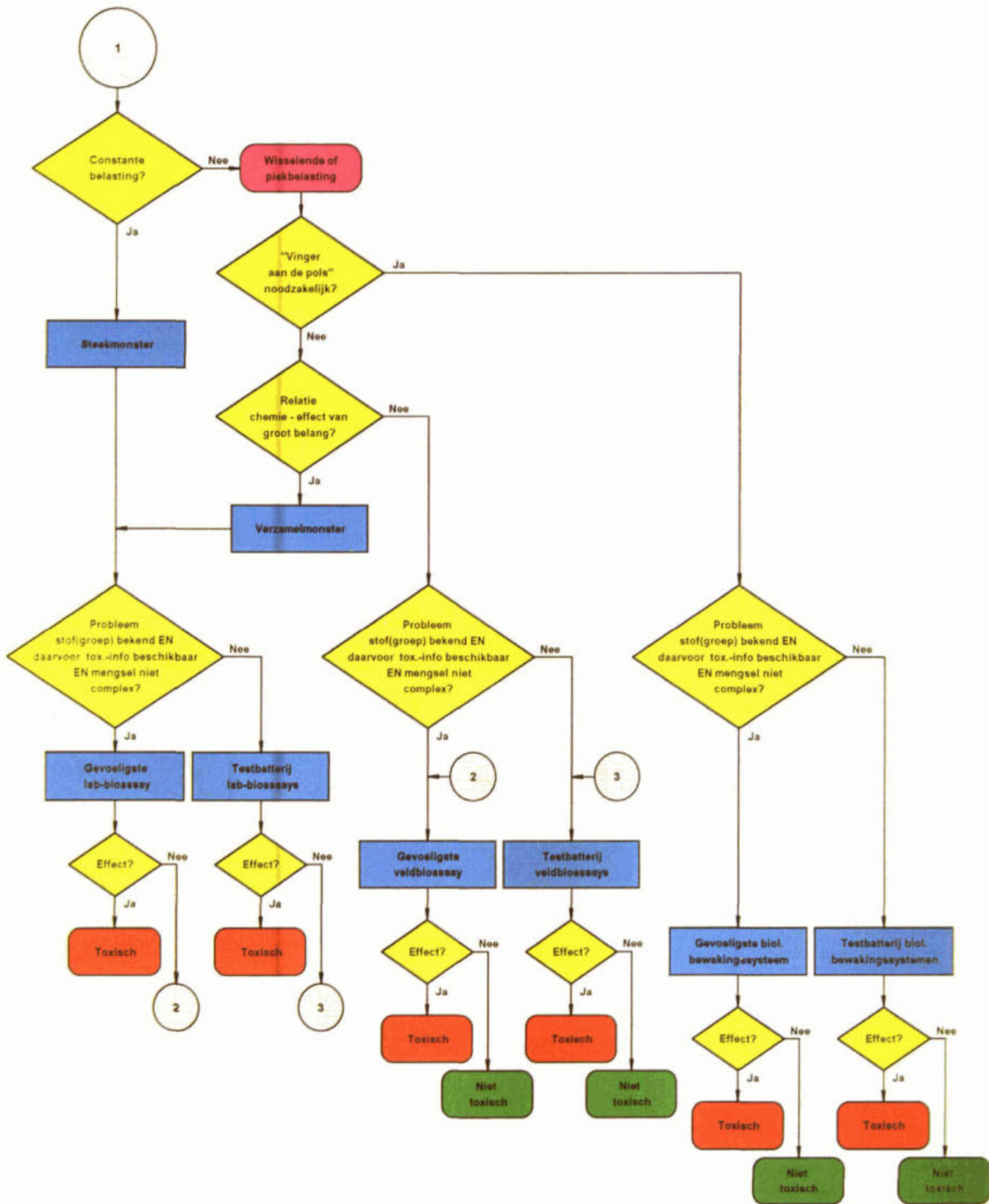
De keuze voor het al dan niet uitvoeren van mutageniteit- en/of bioaccumulatiemonitoring wordt voor een groot deel bepaald door de aanwezige of te verwachten verontreinigende stoffen in samenspel met beschikbare kennis over eventuele mutagene en bioaccumulerende effecten van deze stoffen of stofgroepen. Voor de bioaccumulatiemonitoring gaat het daarbij vooral om de eventuele doorvergiftigingseffecten, die via de voedselketen bij vogels en zoogdieren kunnen optreden. Bij de keuze voor ecosysteemmonitoring staat de vraag of andere (abiotische) factoren mogelijk een (additionele) rol spelen centraal.



**Figuur 1** Keuzesysteem voor de selectie van biomonitoringtypen (①: zie figuur 2). Gebruikte symbolen stroomschema







**Figuur 2** Keuzesysteem voor de selectie van toxiciteit- of effectmonitoringstechnieken (①: zie figuur 1).

Hierbij valt niet alleen te denken aan de aanwezige nutriënten (bijv. N, P), maar ook aan zaken als waterstanden, stroming, aanwezig habitat etc. Aangezien het keuzesysteem zich vooral richt op de toxiciteit- of effectmonitoring (zie 1.3), is het uitwerken van de mogelijkheden voor de drie andere typen monitoring beperkt tot het weergegeven van die technieken, die op basis van het inventarisatierapport (STOWA, 1997) het meest geschikt lijken te zijn.

#### 4.3.2 Chemische of ecotoxicologische effectmonitoring?

Indien gekozen is voor het uitvoeren van toxiciteit- of effectmonitoring, zal allereerst de vraag beantwoord moeten worden of een uitsluitend chemische monitoring tot voldoende inzicht kan leiden. Ook voor het nemen van deze beslissing is de reeds eerder genoemde historische informatie van groot belang, maar aangezien dit voor een groot deel van het keuzeschema geldt, is het betreffende documentensymbool slechts één keer (aan het begin) weergegeven. De historische informatie zou uitsluitend moeten geven over de vraag of er een beperkt en constant aantal toxicanten in hoge concentraties aanwezig is. Indien deze vraag met 'ja' beantwoord kan worden, is het toepassen van louter chemische monitoring voldoende. Praktijksituaties waar dit voor zou kunnen gelden zijn bijvoorbeeld enkele locaties in het beheersgebied van HH Delfland waar organofosforbestrijdingsmiddelen in hoge concentraties aanwezig zijn en de sterfte in uitgevoerde watervlooiën veld- en lab-bioassays dientengevolge altijd 100% bedraagt (zie bijvoorbeeld Runia *et al.*, 1996). De kernwoorden die dit soort situaties beschrijven zijn:

1) *Een beperkt en constant aantal toxicanten:*

Hiermee wordt bedoeld op een relatief overzichtelijke situatie, waar de samenstelling van de aanwezige toxicanten constant is én waar geen zogenaamde 'mengseffecten' te verwachten zijn, doordat het een beperkt aantal toxicanten betreft, die alle tot een stofgroep met eenzelfde werkingsmechanisme behoren. Een praktijksituatie waar zowel metalen als bestrijdingsmiddelen in hoge concentraties kunnen voorkomen, zal dus eerder aanleiding geven tot het uitvoeren van ecotoxicologische effectmonitoring, dan wanneer een beperkt aantal toxicanten aanwezig is. Ook in situaties waar de ene maand het ene bestrijdingsmiddel en de andere maand een ander bestrijdingsmiddel (bijvoorbeeld bij wisselende teelten) aanwezig kan zijn, is het aan te raden om ecotoxicologische effectmonitoring uit te voeren.

2) *Hoge concentraties:*

Met hoge concentraties wordt enerzijds bedoeld dat de chemische analyses betrouwbaar moeten zijn (in relatie tot detectielimieten) en anderzijds dat het optreden van negatieve effecten bij dergelijke concentraties boven elke twijfel verheven is.

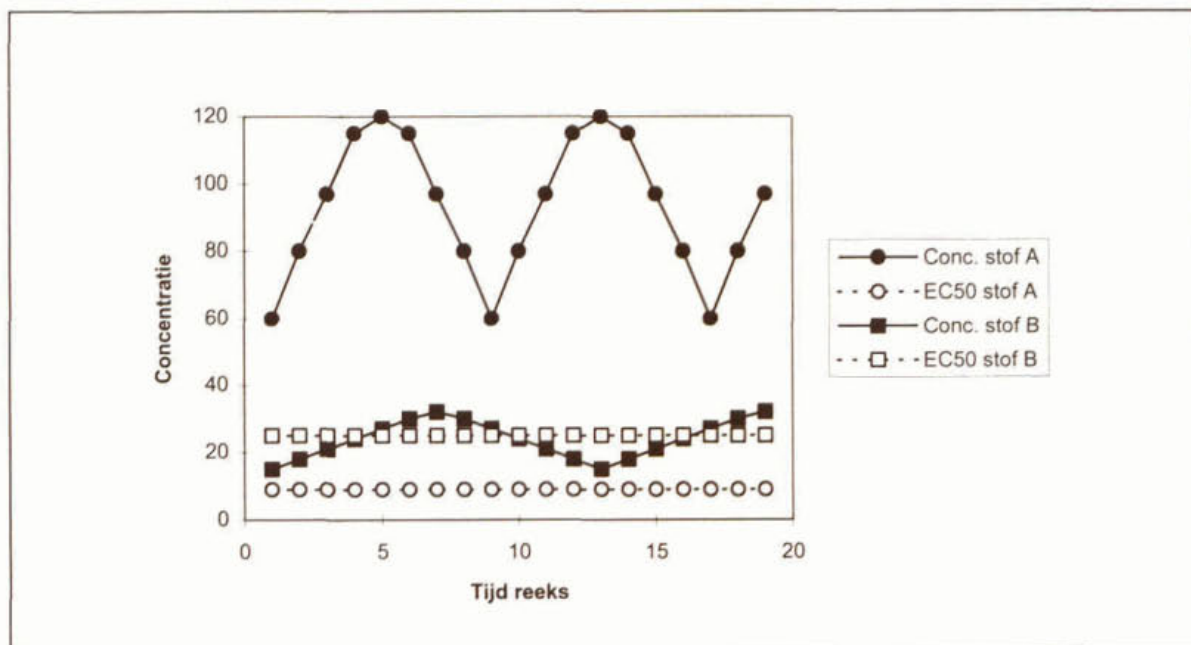
Gedurende de eerste tijd van een strikt chemische monitoring is het, afhankelijk van de doelstelling van het onderzoek, raadzaam om met regelmatige tijdsintervallen een meer uitgebreid pakket chemische analyses te laten uitvoeren. Zo kan worden gegarandeerd dat er inderdaad geen andere toxicanten worden aangetroffen. Worden deze laatste stoffen wel aangetroffen, dan zou dat alsnog een argument kunnen zijn om ecotoxicologische effectmonitoring te gaan uitvoeren.

#### 4.3.3 Constante, wisselende of piekbelasting?

De keuze tussen deze verschillende typen belasting is in figuur 2 zeer centraal weergegeven, wegens de consequenties die hieruit kunnen voortvloeien ten aanzien van de monsternamen en de kosten-effectiviteit. Bij het maken van een onderscheid tussen enerzijds constante en anderzijds wisselende of piekbelastingen dient men zich te realiseren dat hier sprake is van een glijdende schaal. Hierbij is belangrijk dat de keuze niet zozeer bepaald wordt door de absolute verschillen in concentraties (zoals bijv. uitgedrukt in mg/l) maar door de verschillen ten opzichte van de te verwachten effect concentraties (L(E)C<sub>50</sub>-waarden). Een toe- of afname in concentratie met een factor twee kan zo bijvoorbeeld toch aanleiding geven tot het oordeel 'constante belasting' (namelijk indien de effectconcentratie van het gevoeligste organisme hier ruim boven of onder



ligt), terwijl een relatief kleine verandering in concentraties om en nabij de effectconcentratie van een bepaald organisme veel eerder tot het oordeel 'wisselende belasting' kan leiden. Dit probleem is geïllustreerd in figuur 3. In deze strikt theoretische figuur variëren de concentraties van stof A met maximaal 60 concentratie-eenheden, terwijl alle concentraties een factor 6 tot 12 boven de  $EC_{50}$ -waarde liggen. Hierdoor is te verwachten dat, ondanks de sterke variatie in de concentratie, het toxisch effect min of meer constant (waarschijnlijk maximaal) zal zijn. Bij stof B is de situatie precies andersom, aangezien de concentraties slechts een tiental eenheden variëren, terwijl het verschil met de  $EC_{50}$ -waarde maximaal een factor 1,5 is. In dit laatste geval kan worden verwacht, dat het toxische effect sterk kan variëren gedurende de weergegeven tijdsperiode.



**Figuur 3** Theoretische variaties in concentraties ten opzichte van een bijbehorende  $EC_{50}$ -waarde

#### 4.3.4 'Vinger aan de pols' gewenst?

In praktijksituaties waar sprake is van een wisselende en/of piekbelasting hangt de keuze voor de te gebruiken technieken sterk af van het doel waarmee gemeten wordt en de consequenties die dit kan hebben voor het al dan niet nemen van directe acties. In sommige van dit soort situaties (bijvoorbeeld bij de innamepunten t.b.v. drinkwater) wordt een maximale bescherming nagestreefd, waardoor inzicht in de actuele situatie van groot belang kan zijn. Dit zijn dan ook situaties waar de inzet van permanente biologische bewakingssystemen overwogen kan worden. Is de gewenste bescherming óf de noodzaak tot het nemen van directe acties vanwege andere redenen minder groot dan valt, vanuit kosten oogpunt, de inzet van bioassays aan te bevelen.

#### 4.3.5 Steek- versus verzamelmonster en gewenste relatie tussen chemie en effect?

Om lab-bioassays te kunnen uitvoeren dienen monsters van het oppervlaktewater te worden genomen en te worden overgebracht naar het laboratorium. Bij de bemonstering wordt onderscheid gemaakt tussen steek- en verzamelmonsters:

Steekmonster: Op één willekeurig moment genomen hoeveelheid monster van het oppervlaktewater ('spot sample').

Verzamelmonster<sup>2</sup>: Over een bepaalde tijdsperiode (bijvoorbeeld één etmaal) genomen monsters van het oppervlaktewater ('composite sample'). Hierbij wordt per tijdseenheid (tijdsproportioneel) of per debietseenheid (debietsproportioneel) een bepaalde hoeveelheid steekmonster genomen en vermengd met de reeds genomen steekmonsters.

De procedures ten aanzien van het nemen van watermonsters zijn beschreven in een aantal delen van de ISO-5667 richtlijn onder de algemene titel "Water quality - Sampling". De volgende delen zijn van toepassing op het bemonsteren van oppervlaktewater:

Part 1: Guidance on the design of sampling programmes (ISO-5667-1, 1980);

Part 2: Guidance on sampling techniques (ISO-5667-2, 1991);

Part 3: Guidance on the preservation and handling of samples (ISO-5667-3, 1994);

Part 4: Guidance on sampling from lakes, natural and man-made (ISO-5667-4, 1987);

Part 6: Guidance on sampling of rivers and streams (ISO-5667-6, 1990).

De keuze voor het nemen van een steek- of verzamelmonster wordt gebaseerd op het type belasting. Is er sprake van een constante belasting dan zal een, met lab-bioassays beoordeeld, steekmonster voldoende betrouwbare analyseresultaten opleveren (zowel chemisch als ecotoxicologisch). Is er echter sprake van een wisselende of piekbelasting dan zou een steekmonster gemakkelijk tot een verkeerde inschatting van de werkelijke situatie kunnen leiden en valt het nemen van een verzamelmonster (dat vervolgens met lab-bioassays beoordeeld kan worden) aan te bevelen. Hierbij dient men zich echter te realiseren dat de maximaal in het oppervlaktewater aanwezige concentraties (pieken), tijdens het maken van dit verzamelmonster zullen worden verdund.

Wordt ook dit als een ongewenste situatie gezien, dan valt te overwegen om in plaats van de kosten-effectieve lab-bioassays, veldbioassays in te zetten. Deze keuze tussen lab-bioassays en veldbioassays wordt in dit geval bepaald door de volgende afweging: enerzijds speelt de vraag of een maximaal (maar slechts incidenteel voorkomend) effect dient te worden vastgesteld, terwijl anderzijds de vraag naar de gewenste relatie tussen chemische analyseresultaten en eco(toxico)logische effecten speelt. Alhoewel beide vragen over het algemeen positief beantwoord zullen worden, dient men zich te realiseren dat beide punten niet geheel verenigbaar zijn. Lab-bioassays geven in het algemeen een duidelijkere relatie tussen chemische analyses en effecten, aangezien de kwaliteit van een genomen watermonster meestal minder variabel is dan de veldsituatie. Aan de andere kant zijn veldbioassays, door de langere blootstellingsduur en de mogelijkheid tot tussentijdse veranderingen in waterkwaliteit, geschikter om een maximaal effect vast te stellen. Een oplossing voor dit probleem kan liggen in het nemen van meer veldmonsters voor chemische analyses, of in het op meerdere momenten uitvoeren van lab-bioassays, om zo (toevallig) een piekbelasting te treffen. Aangezien beide opties een aanzienlijke (financiële) inspanning zullen vergen, zijn deze in het huidige keuzeschema niet weergegeven.

#### 4.3.6 Gevoeligste techniek of testbatterij?

Een volgend centraal onderdeel van het keuzeschema wordt gevormd door de beslissing ten aanzien van de inzet van één bepaalde techniek dan wel het inzetten van een testbatterij. Hierbij zijn de volgende drie vragen van belang:

---

<sup>2</sup> Een nadeel van verzamelmonsters is dat er zich veranderingen kunnen voordoen in het water: vluchtige stoffen kunnen verdwijnen, zwevende stof kan bezinken, stoffen kunnen aan de wand plakken en stoffen kunnen met elkaar reageren. Om deze processen te beperken is het van belang dat licht wordt uitgesloten, de temperatuur wordt verlaagd en een inert monstervat wordt gebruikt (Botterweg, 1996).



- 1) Is de stofgroep bekend? én
- 2) Zijn hiervoor voldoende toxiciteitgegevens beschikbaar? én
- 3) Kan een complex mengsel (*zie* begrippenlijst) worden uitgesloten?

Alléén indien al deze drie vragen positief beantwoord worden, kan het gevoeligste testorganisme worden geselecteerd. In alle andere gevallen kan beter een testbatterij met een aantal verschillende organismen worden gebruikt.

#### *Testbatterij*

Uit toxiciteitstesten (*zie* begrippenlijst) blijkt dat tussen verschillende soorten testorganismen grote verschillen in gevoeligheid voor specifieke toxicanten bestaan (*zie* bijlagen 12, 13 en 14). Daarnaast kan de biologische beschikbaarheid<sup>3</sup> van stoffen in oppervlaktewater aanzienlijk verschillen tussen deze organismen. Met name in situaties waar sprake is van een complex mengsel van verontreinigende stoffen is het om deze redenen zeer lastig om te kunnen inschatten welke techniek het gevoeligste is om toxische effecten aan te tonen. In dergelijke situaties wordt derhalve aanbevolen om de complete testbatterij met geselecteerde technieken toe te passen.

#### *Gevoeligste techniek*

Ingeval sprake is van verontreiniging van het oppervlaktewater met één probleemstof of met één stofgroep met een vergelijkbaar werkingsmechanisme<sup>4</sup> kan hiervoor de gevoeligste techniek worden geselecteerd (*zie* hierna). In geval van verontreiniging met bijvoorbeeld uitsluitend herbiciden is het duidelijk dat de inzet van biomonitoringtechnieken die gebruik maken van plantaardige organismen (acute algentest, kroostest, DF-Algentest) het meest zinvol is. Wanneer bijvoorbeeld wordt gekeken naar de gevoeligheid van de geselecteerde lab-bioassays voor diuron (fenylureumherbicide), dan blijkt dat algen meer dan honderd maal gevoeliger zijn dan watervlooien (*zie* bijlage 12), die na de algen het meest gevoelig zijn. Andersom geldt dat voor insecticiden: watervlooien zijn voor bijvoorbeeld dichloorvos (organofosforpesticide) zelfs meer dan een miljoen maal gevoeliger dan algen (bijlage 12). In dergelijke situaties kan dus worden volstaan om het oppervlaktewater te monitoren met het meest gevoelige testorganisme.

Indien het verschil met een of meerdere, minder gevoelige technieken echter niet al te groot is, dan is het raadzaam om een eerste beoordeling ook met deze technieken uit te voeren. Door verschillen in biologische beschikbaarheid kan het in de praktijk namelijk voorkomen dat het in theorie 'gevoeligste' testorganisme (*zie* begrippenlijst) géén, en een minder gevoelig organisme wél een negatief effect laat zien in bioassays. Op basis van de resultaten van deze eerste beoordeling kan vervolgens worden vastgesteld welke technieken in die specifieke praktijksituatie voldoende gevoelig zijn voor de detectie van toxiciteit in het oppervlaktewater. Indien dit meer dan één

---

<sup>3</sup> De biologisch beschikbare fractie van een stof is het deel van deze stof in oppervlaktewater dat kan worden opgenomen door levende organismen. Dit is dus de fractie waaraan deze organismen daadwerkelijk worden blootgesteld (actuele blootstelling). De actuele blootstelling wordt door abiotische en biotische factoren beïnvloed. Bovendien hebben de meeste van deze factoren ook weer een invloed op elkaar. Dit maakt het zeer lastig om de actuele blootstelling accuraat te voorspellen.

<sup>4</sup> Stoffen met een vergelijkbaar werkingsmechanisme hebben hetzelfde aangrijpingspunt in organismen. Een voorbeeld van stoffen met een vergelijkbaar werkingsmechanisme zijn de organochloorbestrijdingsmiddelen. De werking berust op de remming van de prikkeloverdracht in zenuwcellen waardoor de werking van spieren wordt verstoord (Van Rijn *et al.*, 1995). Vanwege het verwante werkingsmechanismen is de toxiciteit van dergelijke stoffen optelbaar (Stortelder *et al.*, 1989).



techniek is, dan kan voor (periodiek) vervolgonderzoek de meest kosten-effectieve techniek worden gebruikt om eventuele veranderingen in deze toxiciteit te monitoren<sup>5</sup>.

#### *Selectie gevoeligste techniek: TU-concept*

In situaties waar sprake is van slechts één problematische stof, kan de gevoeligste techniek rechtstreeks worden geselecteerd op basis van het overzicht in bijlage 11. De stoffeninformatie in de bijlagen 12 t/m 14 kan vervolgens worden gebruikt om te beoordelen of deze techniek duidelijk gevoeliger is (bijvoorbeeld meer dan een factor 10 - 100) dan de daarop volgende, minder gevoelige techniek(en). Het direct vergelijken van de gevoeligheden van de geselecteerde technieken is soms lastig omdat voor bepaalde technieken veel meer toxiciteitsdata beschikbaar zijn dan voor andere en doordat soms data zijn weergegeven voor afwijkende organismen, eindpunten of blootstellingsduur. Voor het selecteren van de gevoeligste techniek blijft derhalve enige mate van deskundigheid vereist.

In situaties waar sprake is van één stofgroep met een vergelijkbaar werkingsmechanisme kan de gevoeligheid per techniek worden ingeschat door de toxiciteit over de verschillende stoffen te sommeren. Hierbij kan gebruik worden gemaakt van het zogenaamde Toxic Unit-concept (TU). Dit TU-concept is gebaseerd op het feit, dat na een blootstelling aan een mengsel van stoffen in veel gevallen effecten optreden, die sterker zijn dan de effecten van de verschillende, afzonderlijke componenten. Een TU-waarde wordt berekend door de concentratie van een bepaalde verbinding te delen door de bijbehorende (en uit de literatuur bekende)  $L(E)C_{50}$ -waarde. Door van alle individuele chemische verbindingen de bijbehorende TU-waarden voor één specifiek testorganisme op te tellen, wordt een gesommeerde waarde voor het oppervlaktewatermonster gekregen. Indien deze waarde groter is dan 1, wordt in theorie verwacht dat de  $L(E)C_{50}$ -waarde voor dit organisme onder de 100 volume% (= onverdund) oppervlaktewater ligt. Blootstelling aan het onverdunde water leidt dan in theorie tot meer dan 50% effect, en waarschijnlijk zelfs tot een significant effect (zie 3.2). Indien deze waarde kleiner is dan 1, wordt verwacht dat de  $L(E)C_{50}$ -waarde voor dit organisme boven de 100 volume% uitkomt. Dit betekent dat er slechts een kleine kans is op het aantonen van significante effecten met het betreffende organisme. De techniek die de hoogste  $\Sigma TU$ 's geeft, is in theorie het 'meest gevoelig'. Bij de praktijktoetsing van het keuzesysteem wordt de TU-procedure aan de hand van een praktijkvoorbeeld verder beschreven (zie 5.2.1).

In de bijlagen met de stoffeninformatie (bijlage 11-14) zijn de verschillende chemische verbindingen opgesplitst in een aantal categorieën. Alhoewel de huidige kennis hiertoe niet geheel toereikend is, kan er indicatief van worden uitgegaan dat de TU's van stoffen, die in eenzelfde categorie zijn ingedeeld, opgeteld mogen worden (met uitzondering van categorie 16: diverse stoffen). Ondanks het feit dat bij metalen sprake is van diverse werkingsmechanismen<sup>6</sup> zijn er duidelijke aanwijzingen dat de effecten van de verschillende metalen ook bij elkaar kunnen worden

---

<sup>5</sup> Hierbij wordt er dan wel van uitgegaan dat de basale samenstelling (matrix) van het oppervlaktewater niet al te veel fluctueert. Ook de samenstelling van de aanwezige verontreinigende stoffen moet relatief constant zijn. Bij sterke fluctuaties kan, afhankelijk van het belang van het inzicht in de kwaliteit, worden overwogen om het oppervlaktewater te monitoren met een testbatterij.

<sup>6</sup> De toxiciteit van zware metalen berust in het algemeen op één of meerdere processen zoals binding aan eiwitten, katalyse van radicaalvorming, oxydatie van reductanten, vorming van ADP- of ATP-metaalcomplexen, substitutie- of verdringingsreacties (bijv. Zn en Ca door Cd) en binding aan diverse componenten zoals peptiden en aminozuren, RNA en DNA. Dit soort processen leiden in het algemeen tot functieverlies zoals een verminderde werking van enzymen, het verlies van de selectieve permeabiliteit van membranen, een verstoring van de eiwitsynthese, een verminderde bescherming van cellen tegen oxidatieve stress, een verstoring van de cellulaire energiehuishouding. Deze opsomming is zeker niet compleet en vaak is het relatieve belang van de genoemde processen nog grotendeels onduidelijk (Van Straalen & Verkleij, 1991).



opgeteld. Op het niveau van acute toxiciteit zijn effecten additief (optelbaar) en soms zelfs synergistisch (versterkend)(Stortelder *et al.*, 1989).

#### 4.3.7 Effect aangetoond?

De laatste beslissing in het stroomschema is of er wel of géén effect is aangetoond. Het besluit wordt beïnvloed door een aantal factoren, zoals de geldigheidscriteria van de uitgevoerde test, de randvoorwaarden en de resultaten van enkele statistische analyses. Aangezien deze factoren per techniek verschillen, is per techniek in de betreffende bijlage beschreven hoe deze beslissing genomen kan worden.

Wordt er met een lab-bioassay géén effect vastgesteld, dan kan vervolgens de inzet van een veldbioassay overwogen worden. Aangezien de gevoeligheid toeneemt van de (goedkope) lab-bioassays, naar de veldbioassays en de (dure) biologische bewakingssystemen, is het vooral zinvol om bij het niet vaststellen van een negatief effect in een set lab-bioassays het biomonitoringonderzoek te vervolgen met behulp van veldbioassays. Deze laatste hebben namelijk een grotere gevoeligheid aangezien de testorganismen langer worden blootgesteld en/of de trefkans in het geval van wisselende belastingen groter is. Een kanttekening bij de toepassing van veldbioassays is dat de resultaten hiervan lastiger zijn te interpreteren, aangezien veelal slechts op één moment (bijvoorbeeld alleen bij het inzetten of bij het uithalen) een watermonster wordt genomen voor chemische analyse. Onduidelijk is dan in hoeverre de kwaliteit op dat moment representatief is voor de rest van de testduur.

## 5 PRAKTIJKTOETSING VAN (DELEN VAN) HET KEUZESYSTEEM

### 5.1 Inleiding

De belangrijkste vraag na voltooiing van de inventarisatie en selectie van technieken (zie STOWA, 1997) was of de geselecteerde technieken ook voldoende basis bieden voor het samenstellen van een keuzesysteem waarmee daadwerkelijk:

1. De actuele waterkwaliteit kan worden beoordeeld;
2. De aanwezigheid van verontreinigingen kan worden gedetecteerd (en vroeg kan worden gealarmeerd);
3. Beoordeeld kan worden of voldaan wordt aan de gestelde normen.

In het inventarisatierapport werd gesteld dat het antwoord op deze vraag pas gegeven kan worden nadat het keuzesysteem in de praktijk is gevalideerd. Een (klein) deel van deze validatie heeft plaatsgevonden binnen dit STOWA-project. Deze validatie omvatte het beoordelen van een aantal beschikbare verontreinigde oppervlaktewatermonsters uit het STOWA-project 'Indicatieve analytische methoden en groeps- en somparameters voor de bepaling van de waterkwaliteit' (zie 5.1.1), en het toepassen van het keuzesysteem op enkele praktijklocaties waar sprake is van ernstige verontreiniging van het oppervlaktewater met metalen of bestrijdingsmiddelen (zie 5.1.2).

#### 5.1.1 Beoordeling watermonsters uit STOWA-project 'Indicatieve methoden'

In het project 'Indicatieve analytische methoden en groeps- en somparameters voor de bepaling van de waterkwaliteit' (STOWA, 1996) is beoordeeld of immuno-assays en de 'HPLC-diode-array'-techniek bruikbaar zijn voor het detecteren van bestrijdingsmiddelen in oppervlaktewater. Hiertoe zijn een tiental oppervlaktewatermonsters, waarvan een deel 'opgeladen' met bekende, problematische bestrijdingsmiddelen, met behulp van deze technieken 'blind' (uitvoerder weet niet welke stoffen aanwezig zijn) gescreend op de aanwezigheid en het gehalte van specifieke bestrijdingsmiddelen. Aangezien zowel de monsters als de uitgebreide chemische analyses beschikbaar waren, was dit een gunstige gelegenheid om tevens de toxiciteit van deze monsters te monitoren met behulp van de meest gevoelige lab-bioassays voor de in het monster aanwezige bestrijdingsmiddelen. In 5.3.1 wordt een nadere probleembeschrijving gegeven, wordt beschreven welke technieken zijn toegepast, wat de resultaten hiervan zijn en worden de resultaten geëvalueerd en bediscussieerd.

#### 5.1.2 Uitproberen keuzesysteem op enkele praktijklocaties

Op basis van de beschikbare informatie over de aard en de concentraties van metaal- en/of bestrijdingsmiddelenverontreinigingen (zie tabel 15, STOWA, 1997), is nagegaan bij welke waterbeheerders op basis van gegevens over concentraties aan stoffen (zie STOWA, 1997: bijlage 6 en 7) toxische effecten kunnen worden gedetecteerd in het oppervlaktewater. Voor een eerste selectie van locaties (waterkwaliteitsbeheerders) die in aanmerking kwamen om het keuzesysteem in praktijk te toetsen is, naast deze potentiële traceerbaarheid van toxiciteit, tevens gekeken naar de bereidheid van de beheerder om het keuzesysteem in praktijk uit te (laten) proberen (kenbaar gemaakt via enquête of interview: zie STOWA, 1997). De betreffende waterbeheerders zijn wederom benaderd met de vraag om voor de meest problematische locaties de meest recente chemische analyseresultaten (data na of vanaf 1993) aan te leveren. Met deze recente data is door AquaSense op basis van de gevoeligheden van de biomonitoringstechnieken (zie bijlage 11 t/m 14) beoordeeld op welke van deze locaties dermate hoge gehalten metalen en/of bestrijdingsmiddelen voorkwamen, dat de kans aanwezig was om met één of meerdere technieken toxiciteit in het oppervlaktewater te detecteren. Verder is er bij de selectie van praktijklocaties naar gestreefd om in



elk geval iedere lab-bioassay bij minimaal één beheerder toe te passen, en om op enkele locaties de watervlooiën lab-bioassay (acute watervlooiëntest) en watervlooiën veldbioassay naast elkaar uit te voeren. Tenslotte is gezocht naar geschikte en beschikbare locaties om de watervlooiën veldbioassay op conventionele wijze, met behulp van potten, en met behulp van de RIZA-biokorven (zie bijlage 6) naast elkaar uit te voeren. Een vergelijking van beide testcontainers met elkaar is interessant omdat met de RIZA-biokorven méér effect (hogere immobiliteit) aangetoond zou kunnen worden, vanwege een mogelijk betere uitwisselingscapaciteit tussen de korf en het omringende water. Het RIZA heeft een aantal van deze biokorven voor dit vergelijkende onderzoek ter beschikking gesteld.

Met de waterbeheerders die overbleven op basis van de vermelde selectiecriteria, is in onderling overleg, en per beheerder apart, een plan van aanpak uitgewerkt. Hierin is de selectie van biomonitoringstechnieken gebaseerd op het keuzesysteem (zie 4.2, figuur 2), op het beschikbare budget en op de specifieke wensen van de betreffende beheerder. Uiteindelijk zijn in 1996 bij drie waterkwaliteitsbeheerders daadwerkelijk (delen van) het keuzesysteem toegepast (tabel 3).

**Tabel 3** Waterkwaliteitsbeheerders waar in 1996 in praktijk het keuzesysteem is uitgetoond.

Waterkwaliteitsbeheerder(s):	Probleem:	Zie verder:
Beheerder wenst anoniem te blijven	Zware metalen in een beek na puntlozingen	5.2
Hoogheemraadschap van Delfland	Organofosforpesticiden in diverse watergangen in glastuinbouwgebieden	5.3.2
Heemraadschap Fleverwaard	Diverse pesticiden in tochten in fruitteelt- en glastuinbouwgebieden	5.3.3

Op de betreffende locaties uit tabel 3 is sprake van situaties waarin een zogenaamde vinger aan de pols niet per se gewenst is. Hier lijkt het derhalve niet direct noodzakelijk om biologische bewakingssystemen toe te passen (zie keuzesysteem, 4.2, figuur 2). Verder is in overleg met de STOWA-begeleidingscommissie besloten om de veldbioassays met kroos en muggelarven nog niet in te zetten in deze praktijkronde omdat deze technieken nog niet voldoende zijn uitontwikkeld.

Tenslotte is in paragraaf 5.3.4 nog enige aanvullende, door Waterschap Groot Salland verstrekte informatie opgenomen over hun recente ervaring met actieve biomonitoring van bestrijdingsmiddelen in fruitteeltgebieden.

## 5.2 Praktijkmonitoring metalen

### *Probleemomschrijving*

In het beheersgebied van de betreffende waterkwaliteitsbeheerder stroomt een beek, die door bekende puntbronnen wordt verontreinigd met zware metalen. De beheerder wil op deze locatie de bruikbaarheid van actieve biologische monitoring onderzoeken. De vraag hierbij is om dit op een zo kosten-effectief mogelijke wijze te gaan doen. Gezocht wordt naar de goedkoopste actieve biomonitoringstechniek waarmee op dit moment (= uitgangssituatie) negatieve effecten als gevolg van de metaalverontreiniging gedetecteerd kunnen worden. Deze techniek kan dan (voorlopig) worden gebruikt om te kunnen monitoren of een chemische kwaliteitsverbetering ook resulteert in een verlaging van de toxiciteit en dus ook in een biologische kwaliteitsverbetering. Wanneer na een bepaalde periode de geselecteerde techniek niet meer gevoelig genoeg blijkt te zijn om toxische effecten te kunnen detecteren, dan kan eventueel verder worden gezocht naar meer gevoelige



technieken. Deze situatie lijkt dus bijzonder geschikt om het keuzesysteem uit te proberen ten aanzien van de monitoren van zware metalen in oppervlaktewater.

*Selectie technieken met behulp van het keuzesysteem (zie 4.2, figuur 1 en 2)*

De aandacht binnen dit STOWA-onderzoek gaat uit naar toxiciteit- en effectgerichte biomonitoringstechnieken. Hiermee wordt echter niet gesteld, dat er géén effecten op het ecosysteem waarneembaar zullen zijn, of dat er géén mutagene of bioaccumulerende stoffen aanwezig zijn (figuur 1). Of de metaalconcentraties in de beek zo hoog zijn dat met zekerheid kan worden gesteld dat toxiciteit altijd kan worden gedetecteerd is niet bekend, omdat op deze locatie nog nooit toxiciteitonderzoek is uitgevoerd. Daarom kan worden gesteld dat met uitsluitend *chemische monitoring* nog géén betrouwbaar inzicht in de toxiciteit van het oppervlaktewater wordt verkregen. Om deze reden wordt vervolgd met het keuzesysteem dat gericht is op het selecteren van toxiciteit- en effectgerichte biomonitoringstechnieken (figuur 2).

Op basis van de concentraties zware metalen in deze beek over de periode van 1 januari 1994 t/m 1 april 1996 (data niet opgenomen in dit rapport), kan worden gesteld dat sprake is van een *wisselende belasting* (figuur 2). Tevens kan worden gesteld dat de inzet van (relatief dure) biologische bewakingssystemen niet noodzakelijk c.q. gewenst is (gezien de lokale situatie) en dat er belang gehecht wordt aan het bestaan van een zekere relatie tussen 'chemische analyses' en 'waargenomen effect'. In deze situatie wordt aanbevolen om een *verzamelmonster* te nemen (figuur 2).

De *probleemstofgroep* in de betreffende beek is goed bekend: de zware metalen bereiken hoge concentraties. Voor zware metalen is relatief veel *toxiciteitinformatie* beschikbaar (zie bijlagen 11 t/m 14). De keuze voor de *gevoeligste biomonitoringstechniek* (figuur 2) wordt echter bemoeilijkt omdat metalen verschillende werkingsmechanismen hebben (zie 4.3.6). Daardoor is in deze beek sprake van een *complex mengsel* van verontreinigende stoffen. In deze situatie wordt aanbevolen om een *testbatterij lab-bioassays* toe te passen. Naast metalen is ook het sulfaatgehalte hoog. Bekend is dat sulfaat een 'modifying factor' (zie begrippenlijst) kan vormen. De biologische beschikbaarheid van stoffen in milieu monsters kan per biomonitoringstechniek aanzienlijk verschillen als gevolg van de invloed van dergelijke modifierende factoren. Ook dit is een argument om een testbatterij in plaats van een individuele techniek toe te passen.

Ondanks het feit dat sprake is van diverse werkingsmechanismen zijn er aanwijzingen dat de toxiciteit van de verschillende metalen toch bij elkaar kan worden opgeteld (zie 4.3.6). Dit is gedaan in tabel 4 door per zwaar metaal en bioassay de gemiddelde concentratie te delen door de bijbehorende, als laagste in de literatuur gevonden,  $EC_{50}$ -waarde (zie begrippenlijst). De aldus verkregen TU-waarden (zie 4.3) zijn vervolgens gesommeerd, waardoor een indicatie van de gecombineerde toxiciteit is verkregen. In tabel 4 is tevens de recent beschikbaar gekomen FluoroMetPLATE-bioassay<sup>7</sup> opgenomen (zie tabel 17 in het inventarisatierapport, STOWA, 1997).

Uit de gegevens (tabel 4) blijkt dat het in theorie met alle lab-bioassays uit de testbatterij mogelijk moet zijn om acute metaal toxiciteit te kunnen detecteren omdat de  $\Sigma TU$  circa of groter is dan 1. Hierbij wordt acute metaal toxiciteit gedefinieerd als het kunnen waarnemen van een significant negatief effect ten opzichte van een referentie (zie 4.3). Van deze bioassays lijkt de acute algentest in theorie het gevoeligste, maar deze is minder gevoelig dan de, niet voor dit STOWA-project geselecteerde, FluoroMetPLATE-bioassay. Om deze reden is in overleg met de beheerder besloten om de watermonsters te beoordelen met de volledige testbatterij en ook met de FluoroMetPLATE-bioassay.

<sup>7</sup> Deze bioassay is gebaseerd op een remming van de enzym synthese ( $\beta$ -galactosidase) bij de bacteriesoort *Escherichia coli* als gevolg van blootstelling aan toxicanten, en blijkt specifiek voor zware metalen gevoelig te zijn (Jung *et al.*, 1996). Een meer uitvoerige beschrijving van deze bioassay is weergegeven in bijlage 15.



**Tabel 4** Gemiddelde concentratie (gemid. conc.) van zware metalen in een beek na een puntlozing en berekening 'toxic units' (TU = concentratie stof / EC<sub>50</sub> voor die stof) voor de geselecteerde lab-bioassays (testbatterij) en de FluoroMetPLATE-test.

metaal	Testbatterij lab-bioassays									Fluoro-MetPLATE	
	gemid. conc. (µg/l)	Alg		Bacterie		Watervlo		Rotokit F		1,5 u EC <sub>50</sub> (µg/l)	TU
		72u EC <sub>50</sub> (µg/l)	TU	30min EC <sub>50</sub> (µg/l)	TU	48u EC <sub>50</sub> (µg/l)	TU	24u LC <sub>50</sub> (µg/l)	TU		
kwik	0,098	.*	-	10	0,01	5	0,02	53	0,00	3,7	0,03
koper	12	40	0,30	76	0,16	10	1,20	26	0,46	12,4	0,97
chromium	7	160	0,04	13000	0,00	350	0,02	8270	0,00	4861	0,00
zink	884	60	14,73	270	3,27	540	1,64	2420	0,37	52,1	16,97
lood	13	500	0,03	310	0,04	335	0,04	6318	0,00	1868	0,01
nikkel	15	500	0,03	20000	0,00	7300	0,00	4000	0,00	348	0,04
cadmium	3,71	40	0,09	5400	0,00	20	0,19	1200	0,00	2,9	1,28
	<b>Σ TU's:</b>		<b>15,2</b>		<b>3,5</b>		<b>2,5</b>		<b>0,8</b>		<b>19,3</b>

\*: géén toxiciteitwaarde beschikbaar

Indien minder belang gehecht wordt aan de relatie tussen 'chemie' en 'effect', is het ook mogelijk om direct een testbatterij veldbioassays toe te passen. Doordat echter op dit moment eigenlijk alleen de watervlooiën veldbioassay operationeel is (zie bijlage 6), en doordat het kosten-effectiever is om lab-bioassays toe te passen (mits deze gevoelig genoeg zijn om effecten te detecteren), is er voor gekozen om het onderzoek te beginnen met de toepassing van een testbatterij lab-bioassays.

### *Uitvoering*

Door de waterkwaliteitsbeheerder zijn op vier locaties verzamelmonsters van het (oppervlakte)water genomen (tabel 5).

**Tabel 5** Beoordeelde (water)monsters

nr.	monster-datum	(locatie)code	omschrijving
1	19-09-96	'inlaat'	oppervlaktewater vóór de lozing, dit wordt ingenomen en is de <u>referentie</u>
2	19-09-96	'lozing 1'	verzamelmonster uit afvalwaterstroom 1
3	19-09-96	'lozing 2'	verzamelmonster uit afvalwaterstroom 2
4	19-09-96	'beek'	oppervlaktewater uit de beek, stroomafwaarts van de 2 lozingen
5	-	Na <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	blancotestmedium, artificieel verontreinigd met Na <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> tot een concentratie van 2300 mg SO <sub>4</sub> <sup>2-</sup> per l*

\* Deze concentratie komt overeen met de hoogste concentratie in de beek, gemeten over de periode van 1 januari 1994 t/m 1 april 1996. Dit monster is getest om een indruk te krijgen van de mogelijk negatieve effecten van sulfaat bij dergelijke concentraties.

Ten aanzien van de wijze van bemonstering is nog enige aanvullende informatie verstrekt door de beheerder (bijlage 16a). Per locatie zijn twee plastic monsterflessen volledig afgevuld, gesloten en gekoeld bewaard. Deze monsters zijn aangeleverd bij het laboratorium van AquaSense en daar tot gebruik eveneens gekoeld (6 °C) en donker bewaard.

De dag voor het inzetten van de bioassays zijn de monsters in de middag uit de koeling gehaald om ze bij kamertemperatuur langzaam te laten opwarmen. De volgende dag zijn in alle watermonsters eerst enige fysische en chemische parameters gemeten (zuurgraad, zuurstof-, nitriet- en ammoniumgehalte, geleidbaarheid en temperatuur). Aangezien voor géén van deze parameters de randvoorwaarden (zie bijlagen 1 t/m 4 en bijlage 15) werden overschreden (resultaten niet weergegeven in dit rapport), zijn aansluitend met ieder onverdund watermonster de lab-bioassays ingezet op de wijze zoals beschreven in de bijlagen 1 t/m 4 en bijlage 15. In alle bioassays werd voldaan aan de betreffende geldigheidscriteria, waardoor de testresultaten dus verder beoordeeld mogen worden.

Op een deel van de genomen watermonsters heeft AquaSense tevens metaalanalyses laten uitvoeren. De beheerder heeft op contramonsters naast metalen ook een aantal andere parameters laten analyseren.

### *Resultaten*

De resultaten van de fysische en chemische analyse van de vier watermonsters zijn weergegeven in bijlage 16b. Op basis van de door AquaSense bepaalde metaalconcentraties is voor iedere techniek de  $\Sigma$ TU berekend op de wijze zoals beschreven in paragraaf 4.3.6 en bij 'selectie technieken'. De resultaten hiervan zijn weergegeven in tabel 6. Verder wordt in deze tabel per bioassay het belangrijkste testresultaat weergegeven (gemiddelde over alle replica's). De testresultaten zijn uitvoeriger weergegeven in bijlagen 16c-g.

#### Beek

Uit de resultaten (tabel 6) blijkt dat blootstelling aan het oppervlaktewater uit de beek ten opzichte van het referentiewater (inlaat) een significant negatieve invloed heeft op algen en *E. coli* bacteriën (FluoroMetPLATE). Met de overige testen (Microtox, watervlo en rotifeer) konden geen significant negatieve effecten in de beek worden aangetoond.

#### Lozing 1 en 2

Blootstelling aan het water van lozing 1 heeft ten opzichte van het referentiewater een significant negatieve invloed heeft op algen en een significant positieve invloed op *E. coli* bacteriën (FluoroMetPLATE). Met de overige testen (Microtox, watervlo en rotifeer) konden geen significante effecten in het water van lozing 1 worden aangetoond. Blootstelling aan het water van lozing 2 heeft ten opzichte van het referentiewater een significant positieve invloed op *Vibrio fischeri* bacteriën (Microtox). Met de overige testen (Alg, watervlo, rotifeer en *E. coli*) konden geen significante effecten in het water van lozing 2 worden aangetoond.

#### Sulfaat

Tenslotte blijkt uit de testresultaten dat blootstelling aan 2300 mg SO<sub>4</sub><sup>2-</sup>/l ten opzichte van het referentiewater met 50 mg SO<sub>4</sub><sup>2-</sup>/l (zie bijlage 16b) een significant negatieve invloed heeft op algen (remming groei), watervlooien (100% immobiel) en rotiferen (88% dood). Opmerkelijk is dat dezelfde sulfaatconcentratie een significant positieve invloed heeft op het functioneren van bacteriën: een iets hogere bioluminescentie bij *Vibrio fischeri* (Microtox) en een veel hogere fluorescentie bij *E. coli* (FluoroMetPLATE).



**Tabel 6** Gemiddelde testresultaten van de lab-bioassays en de  $\Sigma$  TU van de zware metalen ( $\mu$  = groei-snelheid, -gamma = bioluminescentie t.o.v. blanco-testmedium, fluo. = fluorescentie, n.v.t. = niet van toepassing).

monster	Geselecteerde lab-bioassays								Fluoro-MetPLATE (1,5 u)	
	Alg (72 u)		Microtox (30 min)		watervlo (48 u)		Rotoxkit F (24 u)		fluo.	$\Sigma$ TU
	$\mu$	$\Sigma$ TU	-gamma	$\Sigma$ TU	% im-mobiel	$\Sigma$ TU	% dood	$\Sigma$ TU		
<b>inlaat (referentie)</b>	<b>1,42</b>	<b>3,4</b>	<b>0,07</b>	<b>1,1</b>	<b>0</b>	<b>5,1</b>	<b>2</b>	<b>1,9</b>	<b>32</b>	<b>6,6</b>
lozing 1	1,36*	0,3	0,04	0,1	0	0,1	8	0,1	150*	0,4
lozing 2	1,40	4,5	0,32*	1,1	0	0,9	2	0,3	32	5,5
beek	1,33*	3,4	0,12	0,9	0	1,7	5	0,6	14*	5,1
2300 mg SO <sub>4</sub> <sup>2-</sup> /l	0,78*	n.v.t.	0,13*	n.v.t.	100*	n.v.t.	88*	n.v.t.	582*	n.v.t.

\*: Significant hoger of lager dan de referentie (=inlaat), waarbij de kans dat het verschil op toeval berust kleiner is dan 5% ( $P \leq 0,05$ ).

Interpretatie van de mate van effect:

Alg, Microtox en FluoroMetPLATE: Hoe lager de waarden, hoe groter het negatieve effect;  
 watervlo en Rotoxkit F.: Hoe hoger de waarden, hoe groter het negatieve effect;

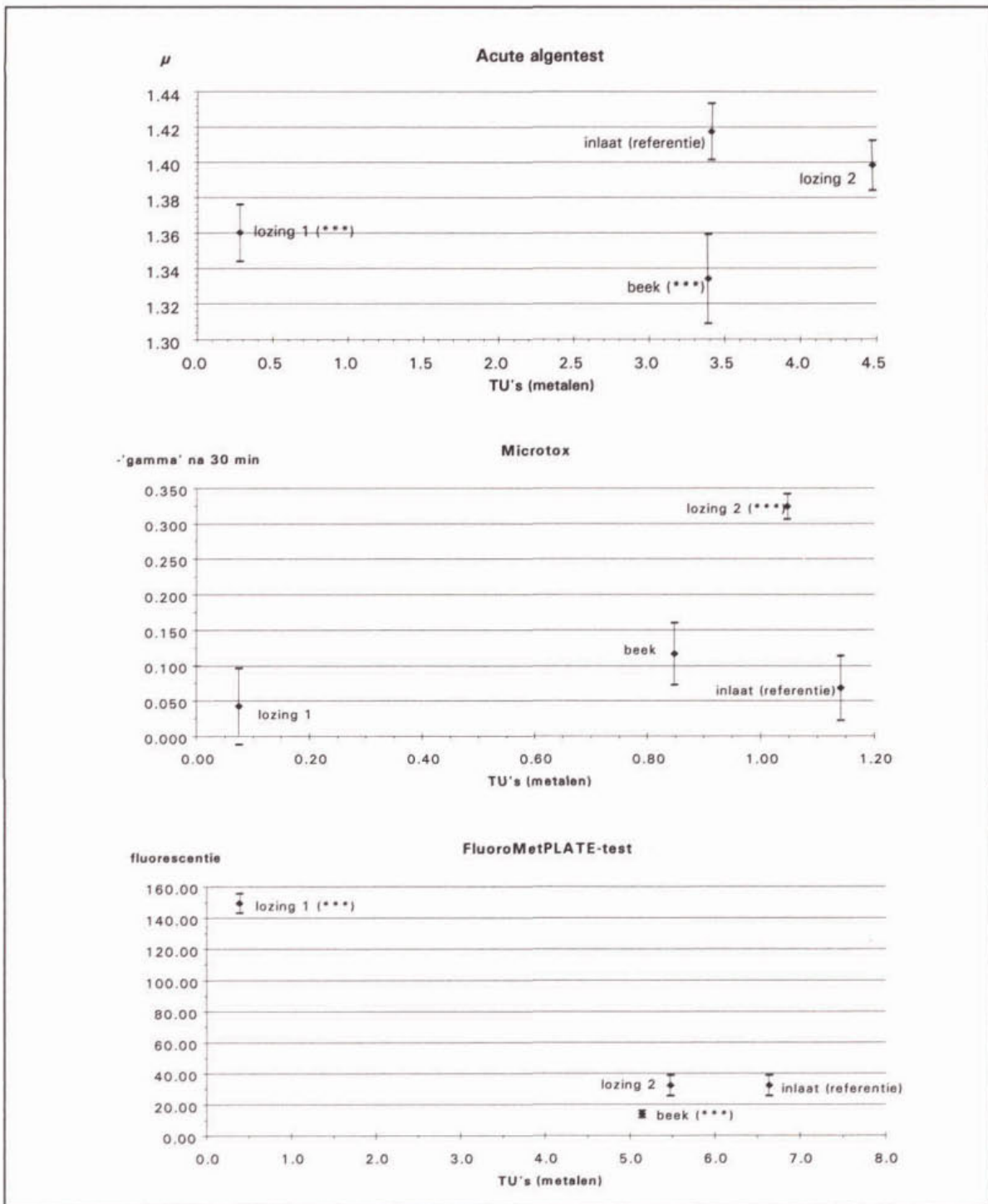
Evaluatie en discussie

Invloed sulfaat

Onbekend is vanaf welke sulfaatconcentratie een positieve invloed optreedt op bacteriën en of dit positieve effect het negatieve effect bij bacteriën als gevolg van de blootstelling aan metalen kan compenseren of zelfs kan overstemmen. De sulfaatconcentratie in het water van lozing 2 (1600 mg/l, zie bijlage 16b) ligt in de buurt van het geteste sulfaatmonster (2300 mg/l). Dit zou voor dit water een mogelijke verklaring kunnen zijn waarom de bioluminescentie bij de bacterie *Vibrio fischeri* (Microtox) significant hoger is dan in het referentiewater, temeer omdat de  $\Sigma$ TU-metalen in beide monsters hetzelfde is (tabel 6: beide 1,1). De bacterie *E. coli* (FluoroMetPLATE) laat echter géén significant hogere fluorescentie zien na blootstelling aan het water van lozing 2. Dit is juist opvallend omdat deze bacteriesoort duidelijk het meest gestimuleerd werd in het sulfaatmonster (zie tabel 6). Het is mogelijk dat de positieve invloed van sulfaat hier wordt gecompenseerd door de negatieve invloed van zware metalen ( $\Sigma$ TU 5,5). Opmerkelijk is dan echter wel dat het referentiewater met een nog hogere  $\Sigma$ TU (6,6), en een veel lagere sulfaatconcentratie, dezelfde fluorescentiewaarde geeft. Blijkbaar spelen ook nog andere 'modifying factors' een rol bij de biologische beschikbaarheid van de zware metalen in deze monsters. De exacte invloed van al deze factoren is echter niet kwantificeerbaar. Omdat na blootstelling aan het water van lozing 2 géén negatieve (en ook geen positieve) effecten werden waargenomen bij de overige testorganismen, lijkt het erop dat een sulfaatconcentratie tot 1600 mg/l géén negatieve effecten veroorzaakt bij algen, watervlooien en rotiferen.

Relatie effect - metaalgehalte ( $\Sigma$ TU)

Met de acute algen-, de acute bacterie- (Microtox) en de FluoroMetPLATE-test zijn tussen de watermonsters verschillen in de mate van effect gemeten. De resultaten van deze testen zijn derhalve ook grafisch weergegeven (zie figuur 4). Bij de acute watervlooien- en de Rotoxkit F-test werden geen effecten vastgesteld.



**Figuur 4** Resultaten acute algentest, acute bacterietest (Microtox) en FluoroMetPLATE-bioassay. Indien de waarneming voor één van de monsters significant hoger of lager dan de referentie (= 'inlaat'), dan wordt dit op de volgende wijze aangegeven: (\*\*\*) =  $P \leq 0,005$ .

Een relatie tussen de mate van effect en de mate van metaalverontreiniging (uitgedrukt in de  $\Sigma TU$ ) is alleen bij de toepassing van de FluoroMetPLATE-test waarneembaar: een lage  $\Sigma TU$  voor lozing 1 is gerelateerd aan een hoge fluorescentie (dus weinig toxiciteit), en hoge  $\Sigma TU$ 's voor lozing 2, beek en inlaat zijn gerelateerd aan een lage fluorescentie. Mogelijk houdt het bestaan van deze relatie verband met het feit dat deze techniek in theorie het 'meest gevoelig' is voor zware metalen (zie tabel 4) en daardoor de versturende invloed van 'modifying factors' kan overstijgen. Verder is



bekend dat deze techniek specifiek gevoelig is voor zware metalen, en relatief ongevoelig voor organische verontreinigingen (Jung *et al.*, 1996). Deze techniek lijkt derhalve bruikbaar om de toxiciteit van zware metalen in deze oppervlaktewatermonsters te monitoren (zelfs in aanwezigheid van hoge gehalten aan sulfaat).

Bij toepassing van de acute algentest en de Microtox-test is de relatie tussen de mate van metaalverontreiniging en de hoogte van het effect niet duidelijk. Waarschijnlijk wordt de verwachte relatie tussen  $\Sigma TU$  en de mate van effect verstoord door 'modifying factors'. De exacte invloed hiervan is echter niet kwantificeerbaar. Aannemelijk is het echter wel dat bij de Microtox-test, sulfaat een stimulerende invloed heeft gehad in het water van lozing 2.

Bij de watervlo- en de Rotoxkit F-test zijn géén negatieve, maar ook geen positieve effecten gemeten. Een  $\Sigma TU \geq 1$  blijkt hier niet direct te resulteren in duidelijk negatieve effecten, terwijl bij een  $\Sigma TU$  vanaf 1 in theorie 50% effect of meer wordt verwacht. Dit duidt er op dat de metalen in het betreffende monster in (veel) lagere mate biologisch beschikbaar zijn dan verwacht. Dit is mogelijk verklaarbaar doordat de  $EC_{50}$ -waarden waarop de TU-berekening is gebaseerd, meestal zijn bepaald in toxiciteitstesten waar de betreffende toxicant is opgelost in een gestandaardiseerd watermedium waarin relatief weinig zouten e.d. zijn opgelost (lage hardheid). Voor de watervlooiëntest wordt in stoffentesten bijvoorbeeld gebruik gemaakt van Dutch Standard Water (DSW) met een hardheid van ca. 84 mg calcium/l en voor de Rotoxkit F-test wordt gebruik gemaakt van EPA-medium met een hardheid van ca. 36 mg calcium/l. Met name het water uit de beek (120 mg calcium/l, zie bijlage 16b) en het water van lozing 2 (740 mg calcium/l) zijn veel harder. Bekend is dat een toename in hardheid de biologische beschikbaarheid van metalen verlaagd. Dit kan de verlaagde beschikbaarheid in een aantal van de beoordeeld monsters dus (deels) verklaren. De hardheid van het referentiewater is echter relatief laag (48 mg/l), de verlaagde biologische beschikbaarheid moet hier derhalve worden gezocht in andere factoren zoals bijvoorbeeld het DOC-gehalte (= opgeloste organische koolstof, is echter niet gemeten, zie bijlage 16b).

De mate van metaalverontreiniging in de beek bleek op het moment van monsternamen ten behoeve van dit onderzoek beduidend lager dan werd verwacht op basis van de gemiddelde gehalten over de periode van 1 januari 1994 t/m 1 april 1996 (zie tabel 4 en bijlage 16b). Vooral het zinkgehalte was bijna een factor 5 lager (180  $\mu g/l$ ) dan eerder bepaald (884  $\mu g/l$ ). Bij deze hogere metaalgehalten is de  $\Sigma TU$  voor bijna alle testen beduidend hoger (zie tabel 4). Het is dus mogelijk dat bij deze gemiddelde, hogere waarden de invloed van de modifierende factoren wordt oversteegen en wel een betere relatie tussen de resultaten van de lab-bioassays (alg, bacterie, watervlo, Rotoxkit) en de  $\Sigma TU$  wordt waargenomen. Het is dan ook aan te bevelen om de mogelijke seizoensverschillen in de toxiciteit van het oppervlaktewater te onderzoeken

#### *Samenvattend*

In dit STOWA-project wordt gesteld dat oppervlaktewater toxisch is indien het gemeten effect significant slechter is dan het effect in oppervlaktewater van een referentielocatie. De actuele waterkwaliteit is in dat geval dus slechter dan de referentie. Uit de resultaten van deze (gedeeltelijke) praktijktoetsing voor zware metalen blijkt dat zowel met de acute algentest (Algaltoxkit F) als met de FluoroMetPLATE-test een significant negatief effect (respectievelijk een lagere groeisnelheid en een lagere fluorescentie) in de beek kan worden waargenomen in vergelijking met het referentiewater (inlaat). Het oppervlaktewater uit de beek is dus toxischer dan het referentiewater. De twee lozingen leveren blijkbaar een negatieve bijdrage aan de ecotoxicologische kwaliteit van het oppervlaktewater in de beek. Bij verder biomonitoring kan voor de betreffende locatie worden aanbevolen om gebruik te maken van beide testen omdat hiermee daadwerkelijk toxische effecten konden worden aangetoond.

De FluoroMetPLATE-test geeft van beide technieken de beste relatie tussen de mate van metaalverontreiniging en de mate van effect. De toepassing van de FluoroMetPLATE-test binnen



dit onderzoek is echter de eerste toepassing in Nederland. Daarom wordt aanbevolen om deze techniek in een aantal praktijksituaties verder te valideren.

Het is eventueel ook mogelijk om het onderzoek te vervolgen met de toepassing van veldbioassays (zie figuur 2). Deze zijn waarschijnlijk gevoeliger vanwege de langere blootstellingsduur (1 week). Wanneer sprake is van een sterk fluctuerende belasting op de onderzochte locaties geven veldbioassays bovendien een grotere trefkans op het detecteren van verontreinigingspieken.

### 5.3 **Praktijkmonitoring bestrijdingsmiddelen**

#### 5.3.1 Monsters STOWA-project 'Indicatieve methoden'

##### *Probleemomschrijving*

Ten behoeve van het STOWA-project 'Indicatieve methoden en groepsparameters' (STOWA, 1996) zijn schone oppervlaktewatermonsters afkomstig van locaties uit het beheersgebied van ZS West-Overijssel, HH Rijnland, HH Uitwaterende Sluizen en WS Regge en Dinkel, opgeladen ('gespiked') met enkele bekende bestrijdingsmiddelen en vervolgens chemisch geanalyseerd. In totaal waren er binnen dit project 30 monsters (schone én opgeladen) beschikbaar met een bekende chemische samenstelling. Dit is een gunstige gelegenheid om tevens de toxiciteit van de monsters te monitoren met behulp van die lab-bioassays, die op papier gevoelig genoeg lijken te zijn voor detectie van de aanwezige concentraties bestrijdingsmiddelen.

##### *Selectie technieken met behulp van het keuzesysteem (zie 4.2)*

De selectie met behulp van het keuzesysteem is hier niet geheel van toepassing, omdat het hier kunstmatige monsters betreft met een bekende chemische samenstelling, en het derhalve alleen nog mogelijk is om te kiezen voor de *meest gevoelige lab-bioassay* of voor een *testbatterij lab-bioassays*. Om deze keuze op voorhand te kunnen maken is op basis van de 'nominale' hoeveelheid 'spike' en de specifieke gevoeligheid van de lab-bioassays beoordeeld welke bioassays en monsters in theorie kansrijk lijken om toxische effecten te kunnen detecteren. Na bestudering blijken vier opgeladen watermonsters kansrijk te zijn om toxische effecten te kunnen detecteren. De gegevens voor deze monsters (nr. 1 t/m 4) zijn weergegeven in tabel 7.

Op grond van deze vergelijkingen kan geconcludeerd worden, dat met behulp van de acute watervlooiën lab-bioassay (zie bijlage 3) in monster 1 mogelijk aldrintoxiciteit gedetecteerd kan worden en in de monsters 2, 3 en 4 mevinfostoxiciteit.

##### *Uitvoering*

Naast de vier potentieel toxische monsters is eveneens het 'schone', niet opgeladen-watermonster getest met de watervlooiën lab-bioassay. Dit is gedaan om in geval van toxiciteit van de opgeladen monsters te kunnen beoordelen of ook het uitgangsmateriaal mogelijk al toxisch was. In totaal zijn dus 8 onverdunde monsters op toxiciteit beoordeeld.

De acute watervlooiëntest kan op dit moment volgens drie opties worden uitgevoerd:

1. Met behulp van *Daphnia magna* uit een laboratoriumkweek;
2. Met behulp van de Daphtoxkit F<sup>TM</sup> magna (*Daphnia magna* als testorganisme);
3. Met behulp van de Daphtoxkit F<sup>TM</sup> pulex (*Daphnia pulex* als testorganisme).

Omdat de uitvoering van de acute watervlooiëntest met behulp van Toxkitmateriaal beduidend kosten-effectiever is dan uitvoering op de conventionele manier en omdat *Daphnia pulex* mogelijk gevoeliger is voor mevinfos dan *D. magna* (zie tabel 7), is besloten om de 8 watermonsters gelijktijdig volgens alle drie genoemde opties te testen. Op deze manier is een optimale vergelijking mogelijk, zodat deze resultaten tevens kunnen worden gebruikt om uiteindelijk te kiezen voor de beste optie.



**Tabel 7** Schone watermonsters uit STOWA-project 'Indicatieve methoden', opgeladen met de vermelde hoeveelheid pesticiden. In deze monsters is na opladen mogelijk toxiciteit detecteerbaar met de weergegeven techniek ('>>' = 'veel hoger dan': toxiciteit waarschijnlijk niet detecteerbaar).

monster	'spike'	nominale concentratie (µg/l)	Laagste toxiciteitwaarde (zie bijlage 12)		
			waarde (µg/l)	techniek	bijzonderheden
1	aldrin	50	28	acute watervlo	<i>Daphnia magna</i> , EC <sub>50, 48u</sub>
2	diuron	0,10	>> 0,10	-	-
	mevinfos	0,15	0,18	acute watervlo	<i>Daphnia pulex</i> , EC <sub>50, 48u</sub>
3	atrazine	0,15	>> 0,15	-	-
	simazine	0,90	>> 0,90	-	-
	vinchlozolin	0,60	>> 0,60	-	-
	mevinfos	0,15	0,18	acute watervlo	<i>Daphnia pulex</i> , EC <sub>50, 48u</sub>
	metribuzine	0,30	>> 0,30	-	-
	primicarb	0,15	>> 0,15	-	-
	metolachloor	0,90	>> 0,90	-	-
4	atrazine	0,15	>> 0,15	-	-
	simazine	0,90	>> 0,90	-	-
	vinchlozolin	0,60	>> 0,60	-	-
	mevinfos	0,15	0,18	acute watervlo	<i>Daphnia pulex</i> , EC <sub>50, 48u</sub>
	metribuzine	0,30	>> 0,30	-	-
	primicarb	0,15	>> 0,15	-	-
	metolachloor	0,90	>> 0,90	-	-

De watermonsters zijn opgeladen door het Milieulaboratorium Omegam in Amsterdam. Van ieder monster is een volledig afgevulde glazen monsterfles van 1 liter gekoeld aangeleverd bij het laboratorium van AquaSense en daar tot gebruik eveneens gekoeld (5 °C) en donker bewaard. Vier dagen voor inzetten van de bioassays is de 'hatching' van de winterieren van de Daphtoxkit (zie bijlage 3) ingezet. Een dag voor het inzetten van de bioassays zijn de monsters in de middag uit de koeling gehaald om ze bij kamertemperatuur langzaam te laten opwarmen. De volgende dag zijn in alle watermonsters eerst enige fysische en chemische parameters gemeten (zuurgraad, zuurstof-, nitriet- en ammoniumgehalte, geleidbaarheid en temperatuur). Aangezien voor géén van deze parameters de randvoorwaarden voor *Daphnia magna* (zie bijlage 3) werden overschreden, zijn aansluitend met ieder onverdund watermonster watervlooiën lab-bioassays ingezet, volgens de drie genoemde opties. Verder is voor iedere optie ook een test ingezet met blancotestmedium. Na 24 en 48 uur blootstelling is in ieder monster het aantal immobiele watervlooiën geteld. In alle bioassays was de immobiliteit in het blanco testmedium 0% en werd dus voldaan aan het geldigheidscriterium (maximaal 10% immobiliteit, zie bijlage 3), zodat de testresultaten verder beoordeeld mogen worden.

#### Resultaten

In tabel 8 zijn de resultaten van de acute lab-bioassays weergegeven, uitgevoerd op de schone én op de met pesticiden opgeladen watermonsters. Uit de resultaten blijkt, dat geen enkel watermonster acute toxiciteit in één van de drie gebruikte lab-bioassays veroorzaakte. Deze resultaten zijn daarmee in tegenstelling met de verwachting aangezien de actuele concentraties in alle monsters de uit de literatuur bekende EC<sub>50</sub>-waarden overschreden. Theoretisch werd daarom voor alle monsters meer dan 50% immobiliteit verwacht.

**Tabel 8** Testresultaten van watermonsters uit het STOWA-project 'Indicatieve methoden' (schoon = schone watermonsters, spike = met de gemeten hoeveelheid pesticide opgeladen watermonsters).

nr.	spike	nominaal (µg/l)	gemeten (µg/l)	laagste tox.-waarde (µg/l)	testresultaten (% <u>immobiele</u> watervlooiën binnen 48 uur blootstelling)					
					lab-kweek		Daphtoxkit F <i>D. magna</i>		Daphtoxkit F <i>D. pulex</i>	
					schoon	spike	schoon	spike	schoon	spike
	blanco	0	-	-	0	0	0	0	0	0
1	aldrin	50	33	28	0	0	0	0	0	0
2	mevinfos	0,15	0,28	0,18	0	0	0	0	0	0
3	mevinfos	0,15	0,28	0,18	0	0	0	0	0	0
4	mevinfos	0,15	0,28	0,18	0	0	0	0	0	0

### Evaluatie en discussie

Voor het ontbreken van acuut toxische effecten in de oppervlaktewatermonsters, die kunstmatig met een aantal bestrijdingsmiddelen zijn verontreinigd, kan een aantal mogelijke oorzaken gegeven worden:

- Allereerst dient men zich te realiseren, dat alle geteste oppervlaktewatermonsters de uit de literatuur bekende EC<sub>50</sub>-waarden met slechts een factor van (maximaal) 1,5 overschreden. Dit is een zeer geringe overschrijding, vooral gezien het feit dat zelfs bij de sterk gestandaardiseerde lab-bioassays de variatie in EC<sub>50</sub>-waarden tussen laboratoria geregeld een factor 2 bedraagt;
- Bij het vergelijken (en verklaren) van verschillen tussen de vastgestelde acute toxiciteit in een watermonster én de theoretisch verwachte effecten, dient gerealiseerd te worden dat de meeste EC<sub>50</sub>-waarden afkomstig zijn van laboratoriumexperimenten met zuivere toxicanten in een standaardmedium. In 'milieumonsters' kunnen diverse andere factoren een rol spelen bij het tot stand komen van een toxisch effect. Hierbij valt onder andere te denken aan verschillen in de nutriëntensamenstelling, het (eventueel) beschikbare voedsel, het optreden van zogenaamde 'mengseffecten' waarin (bekende of onbekende) toxicanten elkaars werking kunnen versterken dan wel verzwakken en verschillen in de biologische beschikbaarheid van toxicanten;
- Een andere mogelijke verklaring is gelegen in de tijd tussen het 'spiken' van de oppervlakte-watermonsters en het aanleveren en testen van de monsters bij AquaSense. Aangezien hier tussen een paar weken is verstreken, kan het zo zijn dat (een deel van) het aanwezige bestrijdingsmiddel reeds is afgebroken, waardoor het monster minder toxisch is. Zo is voor de afbraak van mevinfos in natuurlijk water met slib een halfwaardetijd van enige weken tot een maand gevonden (Handboek bestrijdingsmiddelen; van Rijn *et al.*, 1995).

### 5.3.2 Beheersgebied Hoogheemraadschap van Delfland

#### Probleemomschrijving

In het beheersgebied van het Hoogheemraadschap van Delfland wordt reeds sinds 1990 gebruik gemaakt van de watervlooiën veldbioassay voor het monitoren van mogelijke effecten van met name organofosforbestrijdingsmiddelen in het oppervlaktewater van glastuinbouwgebieden (zie STOWA, 1997). De meest problematische organofosforbestrijdingsmiddelen zijn: dichloorvos,



parathion, pyrazofos, chloorfenvinfos, heptenofos en diazinon. Uit de ervaringen van het Hoogheemraadschap blijkt dat toxische effecten van het oppervlaktewater vaak met de watervlooien veldbioassay kunnen worden aangetoond. In sommige sloten overleeft bijvoorbeeld nooit één watervlo de toets, terwijl op referentiepunten de sterfte gering is ( $\leq 20\%$ ) (Gorter *et al.*, 1996). Op grond hiervan werd door HH Delfland besloten om de delen van het keuzesysteem ten aanzien van de monitoring van bestrijdingsmiddelen in dit proefgebied uit te proberen.

#### *Selectie technieken met behulp van het keuzesysteem (zie 4.2)*

Aangezien er locaties zijn waar nooit één watervlo de veldbioassay overleeft, kan in elk geval voor delen van het beheersgebied van HH Delfland worden gesteld dat er in bepaalde perioden sprake is van een min-of-meer *constante belasting*. Continue *biologische bewaking* is derhalve op die locaties niet noodzakelijk (zie 4.2, figuur 2). Verder zijn de belangrijkste probleemstoffen zeer goed bekend (namelijk de *organofosforbestrijdingsmiddelen*). Op enkele locaties komen soms ook zink en pyrethroïden in voor watervlooien toxische concentraties voor. Bij dit praktijkvoorbeeld is echter ervan uitgegaan dat op het merendeel van de locaties géén sprake is van een *complex mengsel* van toxicanten. Voor de problematische organofosforbestrijdingsmiddelen is relatief veel *toxiciteitinformatie* beschikbaar, waaruit blijkt dat de watervlo *Daphnia magna* het *meest gevoelig* is voor deze stofgroep (zie 3.4). Op de locaties waar altijd 100% sterfte wordt waargenomen met de watervlooien veldbioassay (zie probleemomschrijving), zou volgens het keuzesysteem volstaan kunnen worden met *chemische monitoring*. De waterkwaliteitsbeheerder vindt de watervlooien veldbioassay echter zeer illustratief werken voor doelgroepen als bestuurders en glastuinbouworganisaties (Gorter *et al.*, 1996) en vindt dit een belangrijk argument om deze toets ook op deze locaties te blijven toepassen. Indien nog geen historische biomonitoringdata beschikbaar zouden zijn, dan zou volgens het keuzesysteem het uitvoeren van acute watervlooien lab-bioassays (*meest gevoelig*) met *steekmonsters (constante belasting)* de meest logische eerste stap zijn. In overleg met de betreffende beheerder is daarom besloten om met steekmonsters, afkomstig van dezelfde locaties waar de veldbioassays worden toegepast, acute watervlooien lab-bioassays uit te voeren.

Vanwege de ruime ervaring van HH Delfland met de watervlooien veldbioassay én vanwege het feit dat er altijd locaties zijn waar duidelijk effecten gemeten kunnen worden, is aan HH Delfland gevraagd om op een aantal locaties naast de 'conventionele' potten ook gebruik te maken van de RIZA-biokorven (zie 5.1.2). Door HH Delfland is positief op dit verzoek gereageerd.

#### *Uitvoering*

Door HH Delfland zijn op totaal 23 monitoringlocaties steekmonsters van het oppervlaktewater genomen. Per locatie is een glazen monsterfles van 1 liter volledig afgevuld, gesloten en gekoeld bewaard. Deze monsters zijn aangeleverd bij het laboratorium van AquaSense en daar tot gebruik eveneens gekoeld (6 °C) en donker bewaard. De dag voor het inzetten van de testen zijn de monsters in de middag uit de koeling gehaald om deze bij kamertemperatuur langzaam te laten opwarmen. De dag daarna zijn in alle watermonsters eerst enige fysische en chemische parameters gemeten (zuurgraad, zuurstof-, nitriet- en ammoniumgehalte, geleidbaarheid en temperatuur). Aangezien voor géén van deze parameters de randvoorwaarden voor *Daphnia magna* (zie bijlage 3) werden overschreden (resultaten niet weergegeven in dit rapport), is aansluitend met ieder onverdund watermonster een acute watervlooien lab-bioassay ingezet. Verder is ook een test ingezet met blancotestmedium (100% Dutch Standard Water). Na 24 en 48 uur blootstelling is in ieder monster het aantal immobiele watervlooien geteld. In de monsters waar na 48 uur (einde test) een duidelijk effect werd waargenomen, zijn wederom de belangrijkste fysische en chemische parameters gemeten. Ook na 48 uur werd voldaan aan de voor deze parameters geldende randvoorwaarden. In het blancotestmedium werd na 48 uur 0% immobiliteit waargenomen, waardoor aan het geldigheids criterium voor deze test is voldaan ( $\leq 10\%$  immobiliteit in de blanco, zie bijlage 3) en de testresultaten dus verder beoordeeld mogen worden. Voor een gedetailleerdere beschrijving van deze lab-bioassay wordt verwezen naar bijlage 3.

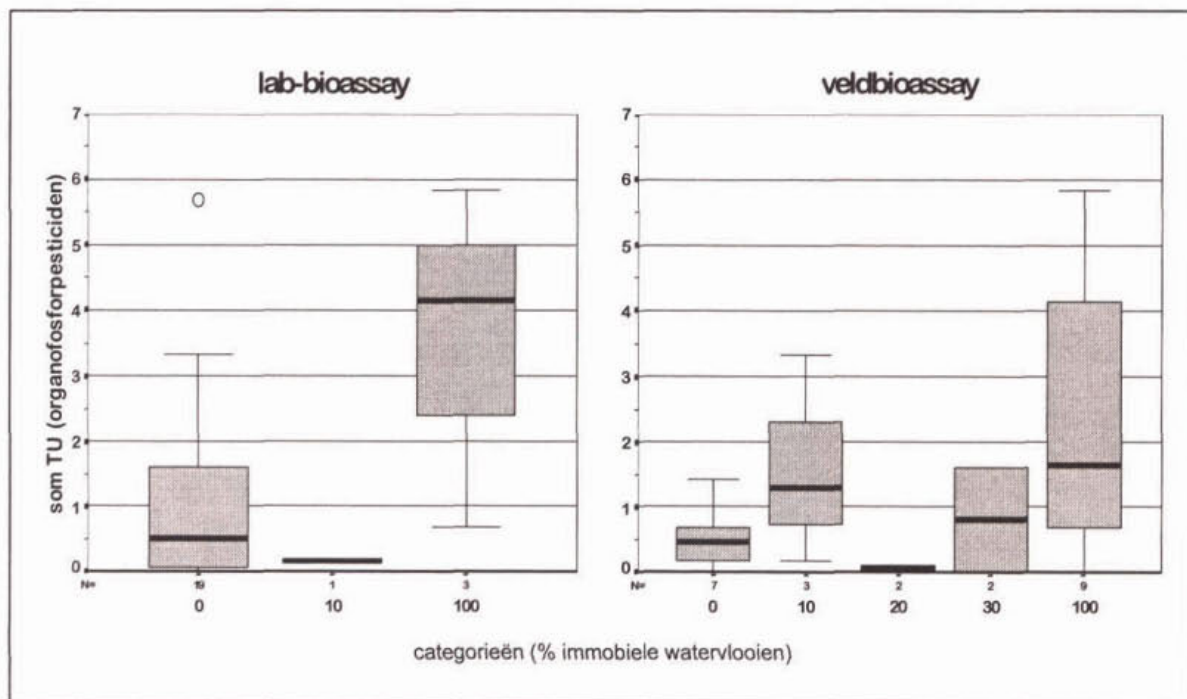


Op de bovengenoemde bemonsteringsdata zijn door HH Delfland van dezelfde locaties eveneens watermonsters genomen voor uitgebreide chemische analyses (o.a. uitgebreid pakket organofosforbestrijdingsmiddelen). Verder werden op 29 en 30 augustus door HH Delfland op al deze locaties watervlooiën veldbioassays (met conventionele glazen potten) ingezet, die 1 week later, op 5 en 6 september, werden uitgehaald. Bij het uithalen is het aantal levende, het aantal niet actieve en het aantal tollende watervlooiën geteld. Verder is kwalitatief beoordeeld of én hoeveel jongen (géén, weinig, véél) er gedurende de blootstellingsduur van 1 week per pot zijn geproduceerd. Aangezien het % (im)mobiele organismen ook de testparameter is waarmee de acute watervlooiën lab-bioassay beoordeeld wordt, worden hier verder alleen de resultaten voor het % immobiele dieren (= aantal dood + aantal niet actief) besproken.

Tenslotte is door HH Delfland in twee monitoringperioden (juli en augustus) naast elkaar gebruik gemaakt van beide typen testcontainers (pot en biokorf) voor het uitvoeren van de watervlooiën veldbioassays. HH Delfland heeft hiervoor zelf een aantal locaties geselecteerd waar toxische, matig toxische of helemaal geen toxische effecten werden verwacht. Voor dit vergelijkende onderzoek zijn de benodigde biokorven ter beschikking gesteld door het RIZA.

### Resultaten

In figuur 5 worden de resultaten van de acute watervlooiën lab- en veldbioassays, die in dezelfde periode en met dezelfde locaties zijn uitgevoerd, samengevat weergegeven met behulp van zogenaamde 'boxplots' (voor uitleg zie bijlage 17). In deze figuur zijn op de Y-as de gesommeerde Toxic Units ( $\Sigma TU$ ) uitgezet, die op basis van de chemische analyses aan individuele organofosforbestrijdingsmiddelen zijn berekend. Hierbij is gebruik gemaakt van de door HH Delfland te beschikking gestelde chemische analyseresultaten. Op de X-as zijn de waargenomen categorieën ('0', '10', '20', '30' en '100% immobiele watervlooiën') uitgezet, waarbij de waarnemingen voor de lab-bioassays zijn afgerond tot tientallen. In bijlage 18a worden de basale data voor deze figuur weergegeven.

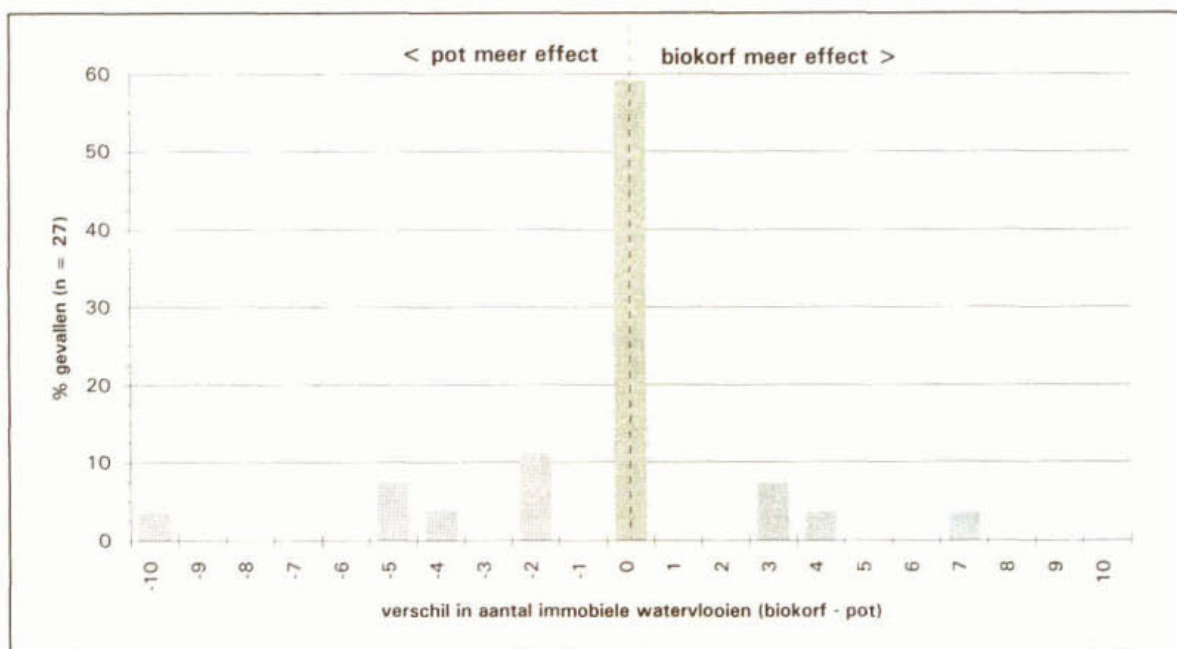


**Figuur 5** Resultaten van de acute watervlooiën lab-bioassays (uitgevoerd door AquaSense) en watervlooiën veldbioassays (uitgevoerd door Hoogheemraadschap van Delfland). De lab-bioassays zijn uitgevoerd met watermonsters genomen in dezelfde periode (september 1996) en op dezelfde locaties als de veldbioassays (N = aantal waarnemingen per categorie; 'O' = uitbijter).



Voor veel categorieën zijn slechts een beperkt aantal waarnemingen beschikbaar (bijvoorbeeld slechts 3 waarnemingen voor de categorie '100% immobiliteit' bij de lab-bioassay). Hierdoor kunnen geen harde conclusies uit de resultaten worden getrokken. Toch lijkt de relatie met de  $\Sigma TU$  duidelijker bij de lab-bioassays dan bij de veldbioassays. Bij de lab-bioassays overlapt de box voor de categorie '0% mobiele watervlooiën' namelijk niet met de box voor '100% mobiele watervlooiën' en ligt de '100%' -box hoger dan de '0%' -box. Daarnaast ligt bij de lab-bioassays het merendeel van de waarnemingen in de categorie '0% mobiele watervlooiën' beneden een  $\Sigma TU$  van circa 1,5. De enige twee uitzonderingen (op een totaal van 19 waarnemingen) worden gevormd door een statistische uitbijter met een  $\Sigma TU$  van 5,71 (weergegeven met een '0' in figuur 5) en de daaropvolgende hoogste waarneming met een  $\Sigma TU$  van 3,32 (zie bijlage 18a). In de categorie '100%' liggen 2 van de 3  $\Sigma TU$ -waarnemingen daarentegen ruim boven de vier. Voor de veldbioassays zijn de resultaten minder uitgesproken: de mediane  $\Sigma TU$ -waarneming (horizontale zwarte balk in de box) ligt bij 100% immobiliteit weliswaar (iets) hoger dan bij 0, 10, 20 en 30% immobiliteit, maar het onderste deel van de box overlapt grotendeels met de box voor 10 en 30% immobiliteit. Opvallend is echter wel dat de allerhoogste  $\Sigma TU$ -waarnemingen ( $>3,32$ ; zie bijlage 18a) allemaal in de categorie '100% immobiliteit' vallen. Verder is opmerkelijk dat de 3 locaties die 100% immobiliteit in de lab-bioassay lieten zien, ook bij de veldbioassays een immobiliteit van 100% veroorzaakten. Tenslotte kan worden opgemerkt dat met de veldbioassays in meer gevallen (39%) dan met de lab-bioassays (13%) 100% immobiliteit is waargenomen.

In figuur 6 worden de resultaten van de vergelijking van beide typen testcontainers in de watervlooiën veldbioassays weergegeven. Op de X-as is het aantal mobiele watervlooiën in de biokorf verminderd met het aantal mobiele watervlooiën in de conventionele pot uitgezet. Op de Y-as is het percentage gevallen van iedere waarneming uitgezet. Waarnemingen rechts van de verticale stippellijn geven de gevallen weer waar in de biokorf meer mobiele watervlooiën werden gevonden dan in de potten en dus een hoger effect is geconstateerd. Voor de waarnemingen links van de stippellijn geldt het omgekeerde. De ruwe data voor deze figuur zijn in bijlage 18b weergegeven.



**Figuur 6** Resultaten watervlooiën veldbioassays door Hoogheemraadschap van Delfland in juli en augustus 1996 uitgevoerd met conventionele glazen potten en met de RIZA-biokorf (in iedere testcontainer zijn bij aanvang 10 watervlooiën ingezet).



Wanneer de resultaten van de biokorven en de potten met elkaar worden vergeleken dan blijkt dat in circa 60% van alle gevallen geen verschil ('0'-waarneming) is waargenomen in het % immobiele watervlooien. Verder lijkt het aantal waarnemingen links en rechts van de stippellijn evenredig verdeeld. Er lijkt dus géén duidelijk verschil te bestaan tussen het % immobiele watervlooien in de potten en in de biokorven. Met behulp van een non-parametrische<sup>8</sup>, gepaarde rangsomtoets (Wilcoxon Signed Ranks Test: test houdt rekening met de hoogte van het verschil tussen twee gepaarde waarnemingen en is daardoor 'krachtiger' dan de gewone rangsomtoets) is getoetst of er een significant verschil bestaat tussen de waarnemingen voor de potten en de biokorven. Dit verschil blijkt in hoge mate *niet* significant ( $P = 0,503$ ).

#### *Evaluatie en discussie*

Uit de vergelijking van de resultaten van de acute watervlooien lab-bioassays met de resultaten van de watervlooien veldbioassays blijkt dat met de veldbioassays veel vaker een toxisch effect (100% immobiliteit) is waargenomen. Dit is niet verwonderlijk omdat watervlooien veldbioassays alleen al vanwege een langere blootstellingsduur (zeker wanneer sprake is van een min-of-meer constante belasting) gevoeliger zou moeten zijn dan de acute watervlooien lab-bioassays. Bovendien hebben veldbioassays een grotere trefkans wanneer sprake is van een wisselende belasting. Dit geldt vooral indien, zoals hier het geval is, in de lab-bioassays met steekmonsters en niet met verzamelmonsters is gewerkt. Wat dit betreft is het dan ook logisch om bij géén effect in de gevoeligste lab-bioassay, de beoordeling te vervolgen met de gevoeligste veldbioassay (zie 4.2, keuzesysteem: figuur 2).

Uit de resultaten blijkt verder dat een deel van de resultaten in de lab-bioassays niet direct verklaard kan worden op basis van de chemische analyseresultaten. In één geval werd bij een  $\Sigma TU$  voor organofosforpesticiden van ruim 3 bijvoorbeeld géén effect (0% immobiliteit) waargenomen, terwijl bij een  $\Sigma TU$  van 1 in theorie 50% effect wordt verwacht. Dat een hoge  $\Sigma TU$  niet direct tot meetbare effecten leidt, duidt er op dat de toxicanten in het betreffende monster minder of niet biologisch beschikbaar zijn (zie verder redenering bij 5.2). Bij de veldbioassays is het 'onverklaarde' deel nog iets groter. Naast géén of slechts geringe effecten bij relatief hoge  $\Sigma TU$ -waarden, zijn hier ook locaties die bij zeer lage  $\Sigma TU$ -waarden (0,00 en 0,05) toch 100% immobiliteit laten zien (zie bijlage 18a). Dit kan mogelijk worden verklaard, doordat de resultaten van de chemische analyse slechts een momentopname zijn van de chemische kwaliteit gedurende de gehele blootstellingsduur. Het is dan ook mogelijk dat het gehalte organofosforbestrijdingsmiddelen op andere tijdstippen gedurende die week wel concentraties heeft bereikt, die verantwoordelijk kunnen zijn voor het waargenomen effect. Het kan ook zo zijn, dat het effect is veroorzaakt door andere, niet-geanalyseerde toxicanten. De rol van de 'modifying factors' zoals pH, zuurstofgehalte, temperatuur kan vrijwel worden uitgesloten, aangezien op de drie referentielocaties géén effecten zijn waargenomen gedurende de monitoringperiode.

Uit de vergelijking van de resultaten van de biokorven en de potten moet worden geconcludeerd dat er vooralsnog géén grond is om aan te nemen dat de biokorven vanwege een betere uitwisselingscapaciteit tot andere monitoringresultaten leiden. Op de onderzochte locaties lijkt er in elk geval geen verschil te bestaan tussen de potten en de korven. De inzet van de conventionele potten lijkt dus kosten-effectiever dan de inzet van de duurere biokorven.

Door HH Delfland zijn verder nog een aantal evaluerende opmerkingen gemaakt ten aanzien van de inzet van korven in vergelijking met de conventionele potten:

---

<sup>8</sup> Non-parametrische technieken veronderstellen géén bepaalde verdeling van de waarnemingen, vandaar ook de naam: *verdelingsvrije* technieken. Ze maken geen gebruik van eventuele achtergrondinformatie (over een bekende verdeling) en kunnen daardoor een minder nauwkeurige uitspraak doen dan de parametrische technieken. De non-parametrische technieken zijn daardoor '*minder krachtig*', d.w.z. een verschil wordt minder snel als significant aangemerkt. Voordeel is echter wel dat deze technieken geen eisen stellen t.a.v. de normaliteit en de homogeniteit van varianties. De hier gebruikte gepaarde rangsomtoets is uitgevoerd met behulp van het statistische softwarepakket SPSS (Norusis, 1992).



Voordeel van het gebruik van de biokorven is dat men niet naar het wateroppervlak hoeft om de potten om te keren. Hierdoor kan vanaf grotere hoogten, zoals bijvoorbeeld bruggen worden gewerkt. Nadeel van het gebruik van de korven is dat niet in ondiep water gewerkt kan worden en dat de korven veel slib vangen. Dit laatste bemoeilijkt het tellen van het aantal overlevende en actieve watervlooien. Per jaar raakt HH Delfland met name in dichtbevolkte gebieden circa 10 tot 15 potten kwijt door verstoring door derden. Dit is in geval van de relatief dure biokorven dus ook een groter nadeel dan bij verlies van potten (mededelingen J. Mangelaars, HH Delfland).

### 5.3.3 Beheersgebied Heemraadschap Fleverwaard

#### *Probleemomschrijving*

In het beheersgebied van Heemraadschap Fleverwaard zijn actieve biomonitoringstechnieken niet eerder toegepast. Binnen het Heemraadschap bestaat echter wel een sterke interesse om deze technieken in de praktijk te brengen. Op basis van historische chemiedata blijken er binnen het beheersgebied verschillende tochten te zijn, waar bestrijdingsmiddelen in theorie met biomonitoringstechnieken detecteerbare gehalten bereiken. Het gaat hier om verbindingen als MCPA, MCPP, bentazon, de organofosforpesticiden dichloorvos en parathion-ethyl en het tot de triazinen behorende atrazine. Aangezien verscheidene van deze verbindingen al bij lage concentraties toxische effecten bij de watervlo of de alg kunnen veroorzaken, is het interessant om het keuzesysteem voor de biomonitoring van bestrijdingsmiddelen in dit beheersgebied in de praktijk uit te proberen.

#### *Selectie technieken met behulp van het keuzesysteem (zie 4.2, figuur 1 en 2)*

De actieve biomonitoring is toegespitst op de toxiciteit- of effectmonitoring (figuur 1). In het beheersgebied van Heemraadschap Fleverwaard is nog niet eerder gebruik gemaakt van biomonitoring (zie hierboven). Daarom is het onbekend of de concentraties bestrijdingsmiddelen hier daadwerkelijk zo hoog zijn dat de kans op het aantonen van toxische effecten niet alleen in theorie, maar ook in praktijk zeer waarschijnlijk is. Met uitsluitend *chemische monitoring* wordt derhalve nog géén betrouwbaar inzicht verkregen in de toxiciteit van het oppervlaktewater. Om deze reden is vervolgd met het keuzesysteem dat gericht is op het selecteren van toxiciteit- en effectgerichte biomonitoringstechnieken (figuur 2).

De selectie van technieken (figuur 2) is gebaseerd op het type belasting, dat is ingeschat als *wisselend*. Een continu inzicht in de kwaliteit van het oppervlaktewater ('*vinger aan de pols*') is niet noodzakelijk c.q. gewenst zodat geen (relatief dure) *biologische bewakingssystemen* hoeven te worden ingezet. Wel wordt er belang gehecht aan het bestaan van een zekere *relatie* tussen '*chemische analyses*' en '*waargenomen effect*'. Daarom is gekozen voor de toepassing van lab-bioassays. De betere relatie met het veld en de hogere gevoeligheid en detectiekans van de *veldbioassays*, en de wens om ervaring op te doen met deze technieken, deden er toe besluiten om voor de praktijktoetsing in het beheersgebied van het Heemraadschap Fleverwaard gelijktijdig met de lab-bioassays ook gebruik te maken van veldbioassays.

Alhoewel het in een praktijksituatie, met een wisselende belasting van het oppervlaktewater, de voorkeur verdient om lab-bioassays met een *verzamelmonster* in plaats van een *steekmonster* uit te voeren (figuur 2), werd hiervan in de huidige praktijktoets afgeweken. Om de detectiekans te vergroten zijn de bioassays in plaats van met een verzamelmonster (genomen over een periode van enige uren tot dagen) uitgevoerd met een drietal steekmonsters die zijn genomen over een tijdsperiode van ongeveer vier maanden.

Op basis van de beschikbare informatie over zowel de historische concentraties als over de gevoeligheden van de verschillende testorganismen voor de betreffende probleemstoffen is bepaald dat de kans op het detecteren van toxische effecten het grootst is bij gebruik van de algentest (specifiek gevoelig voor herbiciden zoals atrazine, MCPA, MCPP, bentazon) en de testen met



watervlooiën (specifiek gevoelig voor organofosforpesticiden). Voor deze praktijksituatie lijkt het daarom niet noodzakelijk om een volledige *testbatterij* in te zetten. In overleg met de betreffende beheerder is daarom besloten om het onderzoek uit te voeren met een tweetal lab-bioassays (acute algentest en acute watervlooiëntest, beide uitgevoerd door AquaSense) alsmede één veldbioassay (de watervlooiën veldbioassay, uitgevoerd door H Fleverwaard). Ook de veldbioassay met kroos is mogelijk geschikt voor het aantonen van toxische effecten op de geselecteerde locaties. Deze test is echter nog niet voldoende ontwikkeld, waardoor deze test in de huidige praktijktoetsing niet werd toegepast.

#### *Uitvoering*

Op een zevental locaties zijn door H Fleverwaard in de perioden juni, juli en september 1996 steekmonsters van het oppervlaktewater genomen. Per locatie is hiertoe een glazen monsterfles van 1 liter volledig afgevuld. Deze monsters zijn direct ingevroren en in één partij bij AquaSense aangeleverd, waar de monsters tot gebruik in de lab-bioassays eveneens ingevroren zijn bewaard. Simultaan met deze monsternamen zijn door het Heemraadschap op alle locaties watervlooiën veldbioassays ingezet en zijn op een tweetal locaties steekmonsters genomen ten behoeve van een aantal chemische analyses.

De dag voor het inzetten van de lab-bioassays zijn de monsters in de middag uit de vriezer gehaald om ze bij kamertemperatuur langzaam te laten opwarmen. De dag daarna zijn in alle watermonsters eerst enige fysische en chemische parameters gemeten (zuurgraad, zuurstof-, nitriet- en ammoniumgehalte, geleidbaarheid en temperatuur). Aangezien voor géén van deze parameters de randvoorwaarden voor hetzij de groenalg *Raphidocelis subcapitata* (voorheen *Selenastrum capricornutum*, zie bijlage 1), hetzij de watervlo *Daphnia magna* (zie bijlage 3) werden overschreden (resultaten niet weergegeven in dit rapport), is aansluitend met ieder onverdund watermonster zowel een acute algentest als een watervlooiën lab-bioassay ingezet. In verband met de kosten-effectiviteit is voor de acute algentest gekozen voor de commercieel beschikbare Algaltokit in plaats van de conventionele test (zie bijlage 1). Verder is voor iedere bioassay ook een test ingezet met blancotestmedium. Na 24, 48 en 72 uur is de optische dichtheid in de algenbioassay (Algaltokit F) spectrofotometrisch gemeten en omgerekend naar het aantal algencellen per ml. Tevens is na 24 en 48 uur blootstelling voor ieder monster in de watervlooiën lab-bioassay het aantal immobiele testorganismen geteld. In alle bioassays is voldaan aan de betreffende geldigheidscriteria (zie bijlage 1 en 3), zodat de testresultaten verder beoordeeld mogen worden. Voor een meer gedetailleerde beschrijving van de wijze waarop de bioassays zijn uitgevoerd, wordt verwezen naar bijlage 1 en 3.

Daarnaast zijn door H Fleverwaard simultaan watervlooiën veldbioassays ingezet (met conventionele potten) en 1 week later uitgehaald. In twee gevallen is de watervlooiën veldbioassay 1,5 week na monsterdatum ingezet (zie bijlage 19a). Bij het uithalen is het aantal actieve en niet-actieve watervlooiën geteld. Verder is het aantal tijdens de veldbioassay geproduceerde jongen kwalitatief beoordeeld (geen, weinig, veel). Aangezien het % (im)mobiele organismen ook de testparameter is waarmee de acute watervlooiën lab-bioassay beoordeeld wordt, worden hier verder alleen de resultaten voor het % immobiele dieren (= aantal dood + aantal niet actief) besproken.

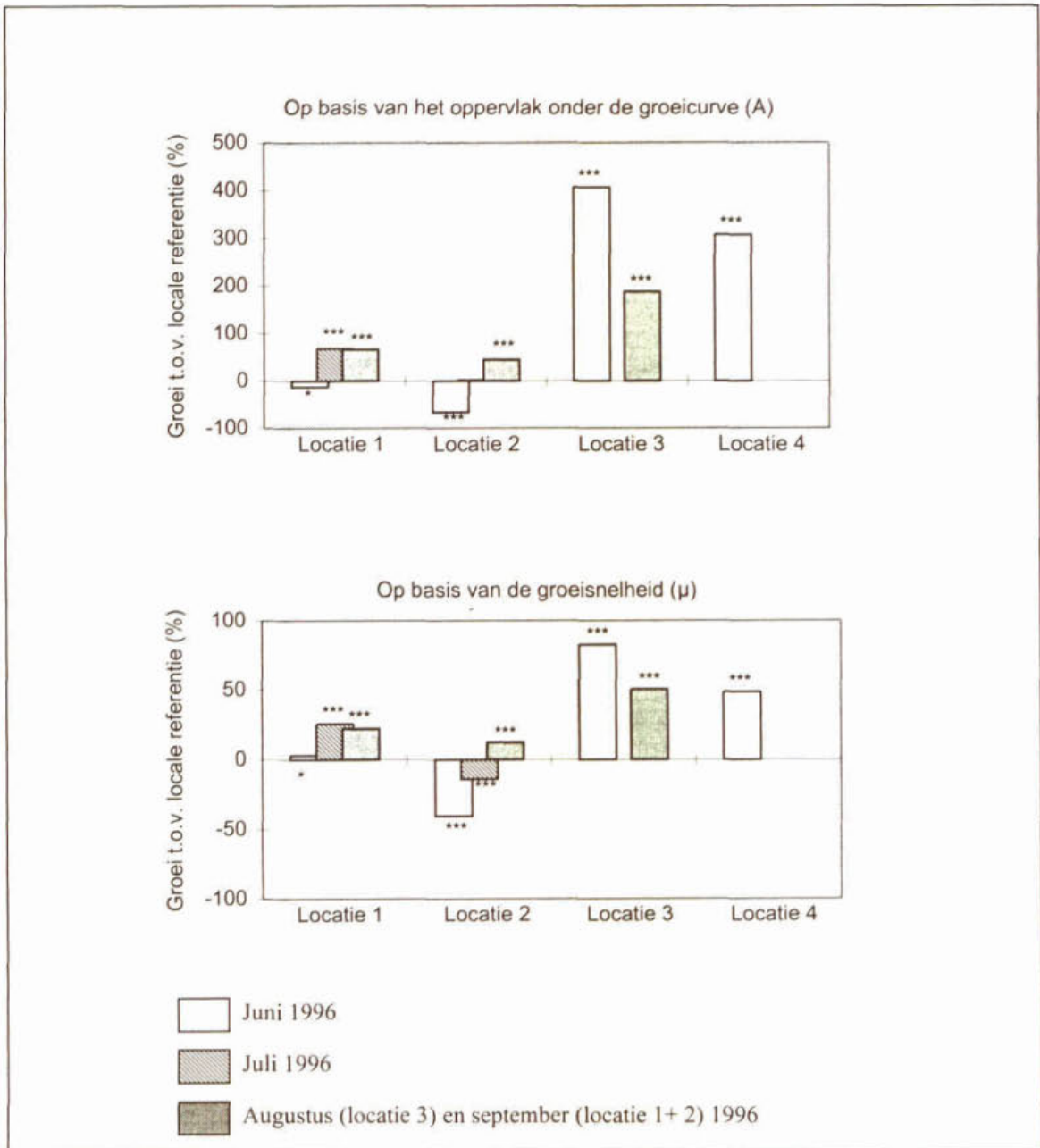
#### *Resultaten*

Uit de resultaten van de acute algentesten (zoals weergegeven in bijlage 19a) blijkt, dat de groei van de algen in de verschillende oppervlaktewatermonsters vrijwel altijd hoger was dan in het blancotestmedium. De twee uitzonderingen hierop zijn het junimonster van locatie 2 (remming van 40-50% t.o.v. blanco) en het referentiemonster behorend bij locatie 3 en 4 uit juni (remming van 30-40% t.o.v. blanco). Voor het huidige onderzoek zijn de groeisnelheden van de algen, blootgesteld aan oppervlaktewater van de 'verdachte' locaties (locaties 1 t/m 4: deze zijn verdacht vanwege de mogelijke aanwezigheid van bestrijdingsmiddelen), daarom uitgedrukt als percentage ten opzichte van de bijbehorende referentielocatie (figuur 7). Daarnaast is de mate van groeiremming in de algentesten zowel op basis van het oppervlak onder de groeicurve (A) als op



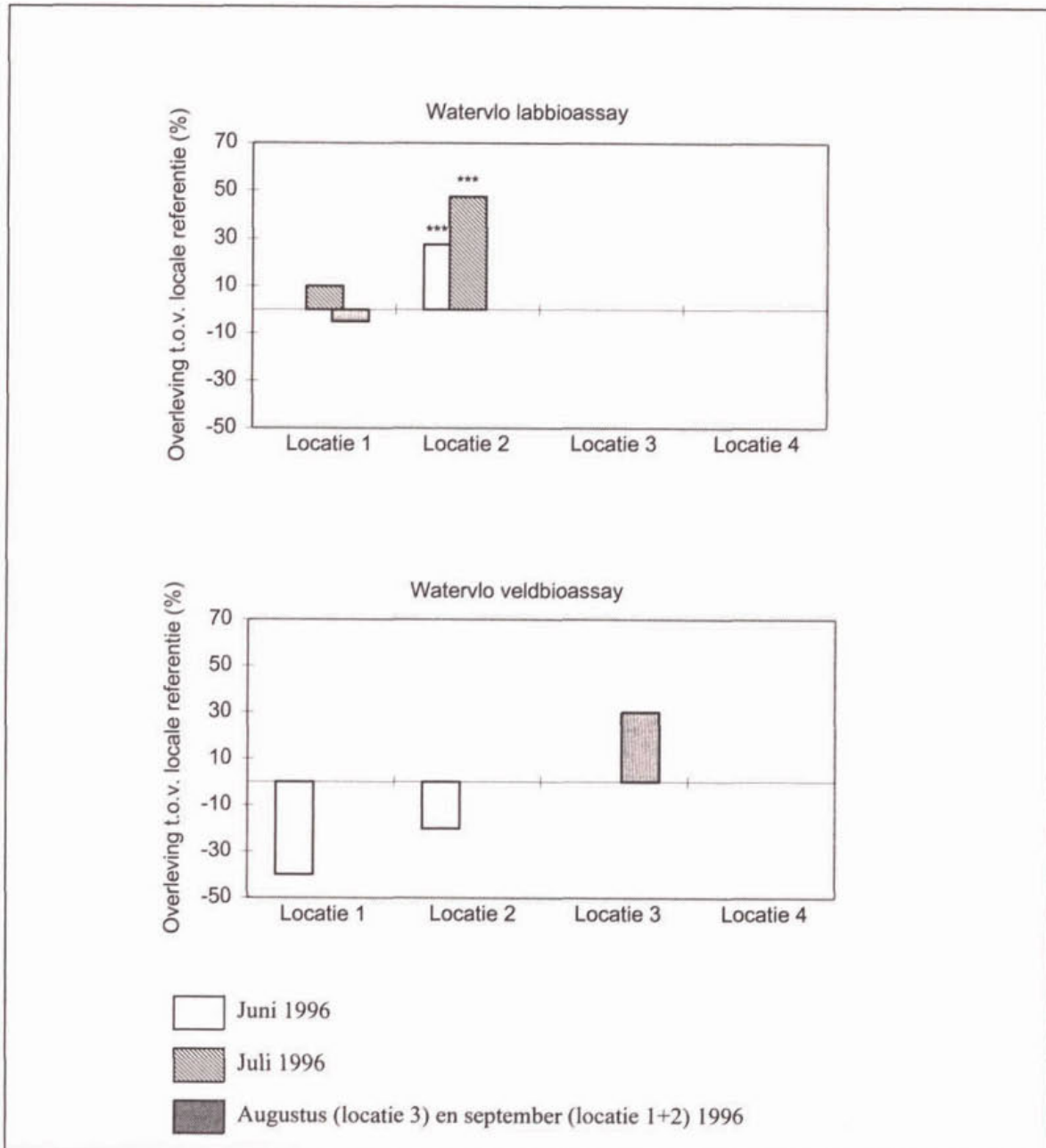
basis van de groeisnelheid ( $\mu$ ) berekend (conform het gevolgde ISO-protocol, zie bijlage 1). Uit figuur 7 blijkt echter dat, alhoewel de hoogte van het effect verschillen vertoont tussen beide berekeningswijzen, de beoordeling van de waargenomen effecten niet of slechts nauwelijks verschilt tussen de beide methoden.

Uit de resultaten blijkt verder dat vrijwel alle watermonsters significant van de bijbehorende referentie verschillen: de resultaten zijn beter (hogere  $\mu$  en A) of slechter (lagere  $\mu$  en A) dan de referentie. Dit geldt zelfs voor het junimonster van locatie 1, dat slechts 3-10% van de referentie verschilt.



**Figuur 7** Resultaten van de acute algentest (lab-bioassay) op een viertal locaties, weergegeven als percentage ten opzichte van de referentielocatie. Een positief percentage betekent een hogere groei, een negatief percentage een lagere groei dan in de referentie. Indien de waarneming voor een van de monsters significant afwijkt van de referentie, dan wordt dit op de volgende wijze aangegeven: \*, \*\*\*, \*\*\*\*: significant beter of slechter dan de bijbehorende referentie (\*:  $P \leq 0,05$ ; \*\*:  $P \leq 0,01$ ; \*\*\*:  $P \leq 0,001$ ).

Deze resultaten illustreren hiermee eens te meer dat de statistische gevoeligheid van de algentest vrij hoog is (conform 3.2). Verder blijkt dat alleen in de monsters van locatie 2 (juni en juli) een duidelijke negatief effect op de groeisnelheid ( $\mu$ ) van algen is opgetreden. Hierbij valt vooral de lage  $\mu$  in het junimonster op, aangezien deze zelfs significant lager is dan het blancotestmedium (zie bijlage 19a). Tevens lijkt er (vooral) op deze locatie sprake te zijn van een in de tijd veranderende situatie. De oppervlaktewatermonsters van de andere verdachte locaties blijken de groei van algen over het algemeen te stimuleren (hogere  $\mu$  en A) ten opzichte van de referentielocatie (tot soms circa 400%, zoals voor A het geval is in het junimonster van locatie 3).



**Figuur 8** Resultaten van de watervlooiën lab- en veldbioassays op een viertal locaties, weergegeven als percentage ten opzichte van de referentielocatie. Een positief percentage betekent een betere overleving, een negatief percentage een lagere overleving dan in de bijbehorende referentie. Indien de waarneming voor een van de monsters significant afwijkt van de referentie, dan wordt dit op de volgende wijze aangegeven: '\*', '\*\*', '\*\*\*': significant beter of slechter dan de bijbehorende referentie ('\*':  $P \leq 0,05$ ; '\*\*':  $P \leq 0,01$ ; '\*\*\*':  $P \leq 0,001$ ).



Ook de resultaten van de watervlooiën lab- en veldbioassays zijn uitgezet ten opzichte van de bijbehorende referentie (figuur 8). De resultaten van beide testen illustreren dat het onderscheidend vermogen van deze testen, vergeleken met de algentest, veel geringer is. Bij de lab-bioassays kon in slechts twee van de monsters een significant verschil met de referentie worden aangetoond. Opvallend is echter dat deze monsters (juni- en julimonster van locatie 2) bij de watervlooiën lab-bioassays een significant betere overleving laten zien in vergelijking tot de referentie, terwijl met dezelfde monsters in de algen lab-bioassay juist een significante remming van de groei ten opzichte van de referentie werd vastgesteld. Daarnaast valt op dat de uitkomsten van de watervlooiën lab-bioassay en de watervlooiën veldbioassay onderling in een aantal opzichten verschillen. Zo is er in juni met de veldbioassay op locatie 1 een verhoogde sterfte (circa 40%) aangetoond (meer dan 20% sterfte wordt reeds als een 'matig effect' beschouwd: zie bijlage 6), terwijl in de lab-bioassay geen verschil werd geconstateerd.

Naast de uitgevoerde bioassays heeft het Heemraadschap in dezelfde monsters de concentraties van een aantal bestrijdingsmiddelen bepaald om na te kunnen gaan in hoeverre er sprake is van een relatie tussen 'chemie' en 'bioassay'. De resultaten van deze chemische analyses alsmede de resultaten van de hierop gebaseerde berekening van het aantal aanwezige Toxic Units, zijn weergegeven in bijlagen 19b,c. Deze chemische analyses zijn alleen op locatie 1 en 2 uitgevoerd.

#### *Evaluatie en discussie*

De geconstateerde hogere groeisnelheid in een aantal oppervlaktewatermonsters, in vergelijking met het blancotestmedium, is waarschijnlijk veroorzaakt door een hogere concentratie nutriënten in het oppervlaktewater. Alhoewel de hoeveelheid nutriënten in het standaard blancotestmedium een aanvaardbare groeisnelheid mogelijk maakt (wat blijkt uit het voldoen aan de geldigheidscriteria), wordt deze hoeveelheid met opzet zo laag mogelijk gehouden. De verwachting is namelijk, dat het toxische effect van allerlei verbindingen wordt gecompenseerd of soms zelfs overstemd door de positieve invloed van hogere hoeveelheden nutriënten. De standaard toxiciteitstest (weinig nutriënten) kan daarom gezien worden als een soort 'worst case' benadering en voldoet goed indien de toxiciteit van zuivere toxicanten wordt bepaald. Indien in het oppervlaktewater de groei lager is dan in het blancotestmedium, dan is dit derhalve een vrij zekere aanwijzing voor de aanwezigheid van acuut toxische effecten op de betreffende locatie.

Voor watermonsters waar dit niet het geval is, kunnen de resultaten ten aanzien van groeisnelheden van algen uitgedrukt worden als percentage ten opzichte van een bijbehorende referentielocatie (zoals in dit praktijkvoorbeeld is gebeurd). Dit maakt dat de keuze van de referentielocatie een directe invloed heeft op de uitkomsten van het onderzoek en dus zeer belangrijk is. Een geschikte referentie is vaak echter op, of direct in de buurt van de locatie niet te vinden. Daarom verdient het voor toekomstig onderzoek aanbeveling om ook de mogelijkheden voor het samenstellen van een gestandaardiseerd medium met een andere (veel hogere) nutriëntensamenstelling te onderzoeken. Op deze manier kan dan ook de invloed van mogelijke veranderingen in de tijd in de kwaliteit van het oppervlaktewater op de referentielocatie (indien deze wel voor handen is) uitgesloten worden.

Daarnaast blijkt uit de resultaten van de algentesten, die zowel op basis van het oppervlak onder de groeicurve (A) als op basis van de groeisnelheid ( $\mu$ ) berekend zijn, dat, alhoewel de hoogte van het effect verschillen vertoont tussen beide berekeningswijzen, de beoordeling van de waargenomen effecten niet of slechts nauwelijks verschilt tussen de beide methoden. Het is daarom het overwegen waard om in de toekomst de resultaten alleen op basis van de groeisnelheid ( $\mu$ ) uit te rekenen, aangezien hierdoor, naast het alleen testen van onverdund water, een substantiële reductie van de kostprijs mogelijk is.

Bij het selecteren van de te gebruiken technieken zijn bij aanvang van dit onderzoek een aantal keuzen gemaakt. De belangrijkste hiervan zijn:



- 1) het kiezen tussen individuele testen of een testbatterij;
- 2) de gewenste relatie tussen 'chemie' en 'bioassay';
- 3) het beoordelen van het type belasting (waarschijnlijk fluctuerend) en
- 4) het nemen van een verzamel- dan wel steekmonster van het oppervlaktewater.

#### Ad 1 en 2)

Met alle drie de bioassays zijn (significante) verschillen tussen de 'verdachte locaties' (locatie 1 t/m 4) en de bijbehorende referentielocaties vastgesteld. Er kan dus worden geconcludeerd dat de gevoeligheid van deze bioassays voldoende is om effecten te kunnen meten. De gevoeligheid van de algentest is echter het hoogste. Daarnaast illustreren de verschillen tussen de resultaten van de acute algen lab-bioassay en de watervlooien lab-bioassay, dat het inzetten van meerdere testorganismen zinvol kan zijn.

In veel van deze gevallen gaat het echter om een significant beter resultaat ten opzichte van de referentie. Inzicht in de fysisch/chemische kwaliteit van het water van de referentielocaties op het moment van bemonsteren ontbreekt. Er kan dus niet worden beoordeeld of, en dat is de wens, het gehalte aan toxicanten (bestrijdingsmiddelen en/of andere stoffen) beduidend lager was in de referentiemonsters, en of deze monsters wat betreft nutriëntensamenstelling vergelijkbaar zijn met de bijbehorende monsters van de 'verdachte locaties'. Derhalve wordt voor vervolgonderzoek op deze locaties aanbevolen om eerst de geschiktheid van de geselecteerde referentielocaties verder te onderzoeken.

Afgaande op de chemische analyseresultaten voor locatie 1 en 2 moet worden geconcludeerd dat de gehalten aan gemeten bestrijdingsmiddelen op alle drie de tijdstippen laag zijn. Dit resulteert in lage gesommeerde TU's voor zowel algen als watervlooien (zie resultaten). Het is derhalve niet mogelijk om de in juni en juli met de algentest gemeten negatieve effecten op locatie 2 te relateren aan de gemeten gehalten aan bestrijdingsmiddelen. Het lijkt dan ook waarschijnlijk dat er andere, niet geanalyseerde verbindingen in deze monsters verantwoordelijk waren voor de remming van de algengroei.

Bij de probleemomschrijving werd gesteld dat in het beheersgebied van H Fleverwaard bestrijdingsmiddelen in theorie detecteerbare gehalten bereiken. Dit houdt in dat de (gesommeerde) TU's waarden bereiken van 1 of hoger. De gehalten op de momenten van bemonstering waren beduidend lager dan deze verwachte gehalten. Dit kan ook een verklaring zijn waarom niet vaker significant negatieve effecten zijn waargenomen in deze praktijkmonitoring. Misschien is het met een betere afstemming van de toepassing van de biomonitoringstechnieken op het tijdstip van gebruik van bepaalde bestrijdingsmiddelen wel mogelijk om (vaker) toxische effecten te meten en te kunnen relateren aan de gemeten (pieken) in gehalten van deze bestrijdingsmiddelen.

Aangezien op basis van de chemische analyses geen relatie gelegd kan worden tussen 'chemie' en 'bioassay', kan op basis van deze praktijktoets niet beoordeeld worden of de keuze voor een tweetal testorganismen in plaats van een volledige testbatterij juist was.

#### Ad 3+4)

Bij een wisselende belasting valt in principe het nemen van een verzamelmonster aan te raden. Een deel van dit verzamelmonster wordt daarna chemisch geanalyseerd en met een ander deel worden bioassays uitgevoerd. Toch is voor de huidige praktijktoets gebruikt gemaakt van steekmonsters (zie eerder). De resultaten van deze steekmonsters illustreren dat ook bij een wisselende belasting, indien de monsters op verschillende momenten in de tijd worden genomen, in sommige gevallen ook significante effecten gemeten kunnen worden. Daarnaast illustreren (vooral) de algentesten met de oppervlaktewatermonsters van locatie 2 het mogelijke risico dat het werken met verzamelmonsters inhoudt. Waren de drie watermonsters van locatie 2 namelijk van te voren proportioneel gemengd, dan was de kans aanwezig dat de negatieve effecten en de positieve effecten elkaar ongeveer uitgemiddeld hadden. Alhoewel positieve en negatieve effecten niet



zomaar tegen elkaar zijn weg te strepen, dient men bij het opzetten van het onderzoek dit mogelijk risico altijd af te wegen tegen de hogere kosten-effectiviteit van verzamelmonsters.

#### 5.3.4 Aanvullende informatie: beheersgebied Waterschap Groot Salland

In 1996 zijn door het WS Groot Salland veldbioassays met watervlooien en vissen verricht om de kwaliteit van het oppervlaktewater in een fruitteeltgebied te monitoren. Door toepassing van deze vorm van actieve biologische monitoring is vastgesteld dat het oppervlaktewater in het onderzoeksgebied toxisch kan zijn voor deze organismen als gevolg van het gebruik van bestrijdingsmiddelen in fruittuinen (WS Groot Salland, in prep.). Op basis van TU-berekeningen kon de sterfte bij watervlooien en vissen in een enkel geval worden gerelateerd aan de hoge concentraties van respectievelijk insecticiden (parathion-ethyl) en fungiciden (captan). Op grond van deze resultaten bestaat binnen dit waterschap het voornemen om deze vorm van biologische monitoring verder te implementeren in het waterkwaliteitsonderzoek (mededeling T. Voskamp, WS Groot Salland).

#### 5.3.5 Samenvattend

Overeenkomstig met de situatie bij de praktijktoetsing met metaal verontreinigd oppervlaktewater, werd ook bij deze praktijktoetsing van bestrijdingsmiddelen geconcludeerd dat de resultaten van de uitgevoerde bioassays niet direct verklaard konden worden op basis van de chemische analyses. Mogelijke verklaringen hiervoor zijn gelegen in: a) de hoogte van de toxicantconcentraties, b) een verschil in biologische beschikbaarheid en andere 'modifying factors' tussen enerzijds verschillende locaties en anderzijds tussen laboratoriumexperimenten met zuivere chemicaliën respectievelijk natuurlijke monsters, c) de tijd tussen het biologisch dan wel chemisch analyseren van de monsters en d) het feit dat voor de veldbioassays, de chemische analyses slechts een momentopname zijn. Daarnaast werd echter vooral op basis van de resultaten van HH Delfland geconcludeerd dat bij de lab-bioassays de correlatie met de  $\Sigma$ TU duidelijker is dan bij de veldbioassays. Aan de andere kant werd met de veldbioassay veel vaker een toxisch effect waargenomen. Alhoewel beide zaken theoretisch verwacht werden, illustreert dit voorbeeld nogmaals dat bij het ontbreken van acute effecten in lab-bioassays een mogelijk vervolgonderzoek middels veldbioassays valt aan te bevelen (conform de opzet van het keuzesysteem).

Daarnaast werd ook bij deze praktijktoetsing van bestrijdingsmiddelen (conform de situatie bij de metaalverontreinigde locaties) in een aantal gevallen geconstateerd dat de toxicantconcentraties ten tijde van de monsternamen beduidend lager waren dan de historische (piek-?) waarden, die gebruikt waren bij het selecteren van de te gebruiken technieken. Hierdoor kon het voorkomen, dat de kans om effecten aan te tonen als 'redelijk' werd ingeschat, terwijl de feitelijke testen géén negatieve effecten lieten zien. Om in deze gevallen toch de kwaliteit van het oppervlaktewater te kunnen beoordelen is het dan ook noodzakelijk om de trefkans te vergroten door hetzij veldbioassays in plaats van lab-bioassays te gebruiken (conform keuzesysteem) hetzij de gebruikte bioassays enige malen in de tijd te herhalen.

Tenslotte werd uit de vergelijking van de resultaten van de watervlooien veldbioassays met de RIZA-biokorven respectievelijk de conventionele potten geconcludeerd, dat er vooralsnog géén grond is om aan te nemen dat de biokorven vanwege een betere uitwisselingscapaciteit tot andere monitoringresultaten leiden.



## 6 DISCUSSIE, CONCLUSIES EN AANBEVELINGEN

### 6.1 Discussie

#### 6.1.1 Inleiding

Bij het ontwikkelen van het keuzesysteem ten behoeve van de selectie en toepassing van effectgerichte, actieve biomonitoringstechnieken, is ernaar gestreefd om het systeem bruikbaar te maken voor het beantwoorden van een drietal biomonitoringvragen (zie 1.3). Daarnaast zijn op basis van de inventarisatie van ervaringen en wensen van waterkwaliteitsbeheerders nog een aantal randvoorwaarden geformuleerd waaraan het keuzesysteem zou moeten voldoen (zie 4.1). Hierna wordt bediscussieerd of deze biomonitoringvragen met het huidige keuzesysteem (figuur 1 en 2) kunnen worden beantwoord (6.1.2) en of voldaan wordt aan de gestelde randvoorwaarden (6.1.3).

#### 6.1.2 Kunnen de biomonitoringvragen worden beantwoord met het keuzesysteem?

*Is het mogelijk de actuele waterkwaliteit te beoordelen?*

Zodra met een of meerdere biomonitoringstechnieken negatieve effecten worden gemeten in het te beoordelen oppervlaktewater, dan kan dit water als toxisch worden beoordeeld. Binnen dit onderzoek is gesteld dat sprake is van een negatief effect indien het gemeten effect significant slechter is dan in het blanco testmedium en/of het oppervlaktewater van de referentielocatie. De actuele waterkwaliteit van het beoordeelde oppervlaktewater is in dat geval dus slechter dan de blanco en/of referentie. Uit de uitgevoerde praktijktoetsing blijkt dat de geselecteerde technieken inderdaad gevoelig genoeg kunnen zijn om negatieve effecten te meten. Het is dus mogelijk de actuele waterkwaliteit, gericht op het meten van toxische effecten te beoordelen.

Bij het aantonen van een significant negatief effect bij een verschil van bijvoorbeeld slechts 5% ten opzichte van de blanco of referentie (zoals met de algentest mogelijk is), dient men zich echter af te vragen in hoeverre dit effect ecologisch relevant is. Op dit ogenblik is het echter nog moeilijk om een scherpe scheidslijn tussen relevante en niet relevante effecten aan te geven, aangezien vele factoren hierop van invloed zijn, en voldoende inzicht hierin ontbreekt. Zo is het in de meeste gevallen nog onduidelijk of seizoensvariatie een rol speelt. Het verdient dan ook aanbeveling om de biomonitoringstechnieken enige malen te herhalen, zodat de ecologische relevantie van een effect beter kan worden beoordeeld. Bij een voldoende hoog percentage effect, bijvoorbeeld meer dan 50%, wordt de ecologische relevantie echter duidelijker. Daarnaast is in het onderzoek gebleken dat er een gebrek aan inzicht bestaat in de normaalwaarden<sup>9</sup> van resultaten van de verschillende bioassays met veldmonsters. Het is dan ook nog niet mogelijk om kwantitatieve beoordelingscriteria te formuleren.

*Kan de aanwezigheid van specifieke verontreinigingen worden gedetecteerd?*

Uit de praktijktoetsing blijkt dat er voor locaties waarbij de  $\Sigma$ TU voldoende hoog is (hot spots of incidentele voorvallen), een relatie bestaat tussen de mate van effect en de concentratie van de verontreinigende stof. In deze gevallen is het aannemelijk dat de effecten in hoofdzaak worden veroorzaakt door de problematische stoffen en dus lijkt het mogelijk om de aanwezigheid van specifieke verontreinigingen te detecteren. Voor locaties waarbij de  $\Sigma$ TU minder hoog is, bleek deze relatie in praktijksituaties niet zo duidelijk te zijn. Deze zou kunnen worden verhelderd door enerzijds meerdere locaties op meerdere momenten te testen en anderzijds andere en meer

<sup>9</sup> Normaalwaarde = (bandbreedte van) waarde(n) die een biologische parameter kan aannemen onder relatief schone (= niet verontreinigde) omstandigheden.



gevoelige technieken toe te passen. Naast het toepassen van chronische bioassays wordt hierbij ondermeer aan een tweetal andere technieken gedacht, die op dit ogenblik reeds in ontwikkeling zijn dan wel gedeeltelijk uitgeprobeerd worden, namelijk het kunstmatig concentreren van toxicanten dan wel het toepassen van zogenaamde biomarkertesten (zie STOWA, 1997).

De aanwijzing dat het in hoofdzaak de problematische verontreinigingen zijn die verantwoordelijk zijn voor waargenomen effecten, wordt in belangrijke mate versterkt indien op een referentielocatie géén, of duidelijk minder negatieve effecten worden gemeten. Een ideale referentielocatie is exact vergelijkbaar met de ernstig verontreinigde locatie, alleen de mate van verontreiniging is beduidend lager. Toch kan ook in gevallen waar een geschikte referentielocatie simultaan is beoordeeld, en waar op deze locatie géén en op de verontreinigde locaties wél negatieve effecten zijn aangetoond, niet met 100% zekerheid worden gesteld dat deze effecten (uitsluitend) werden veroorzaakt door de problematische bestrijdingsmiddelen en/of metalen. De geselecteerde biomonitoringstechnieken zijn namelijk niet of nauwelijks stofspecifiek. De gemeten effecten zijn altijd het gevolg van de gecombineerde blootstelling aan alle in het oppervlaktewater aanwezige verontreinigende stoffen (dus ook de niet problematische en de niet geanalyseerde en/of onbekende stoffen). Verder spelen de interacties van deze stoffen met elkaar, de interacties tussen stoffen en andere abiotische factoren (pH, opgeloste organische stof, zwevende stof etc.), en de interacties tussen deze abiotische factoren en de geselecteerde organismen een rol. Het gemeten effect is de resultante van al deze interacties en wordt derhalve algemeen gezien als een somparameter. Het is onmogelijk om alle factoren die hierbij een rol spelen te identificeren en de invloed ervan te kwantificeren.

*Kan worden beoordeeld of wordt voldaan aan de gestelde normen?*

Voor de hier geselecteerde set van biomonitoringstechnieken is het, afgaande op de toxiciteitgegevens voor specifieke stoffen, niet aannemelijk dat in ongeconcentreerd oppervlaktewater individuele stofgehalten tot op grenswaarde- of (indicatieve)MTR-niveau gedetecteerd kunnen worden. Dit is niet verwonderlijk gezien het feit, dat het MTR-niveau wordt berekend uit de stofconcentraties die in chronische toxiciteitstesten (net) geen negatieve effecten veroorzaakten (NOEC-waarden), terwijl het in de geselecteerde lab-bioassays en de biologische bewakingssystemen om acute effecten gaat. Dit zelfde geldt voor de grenswaardeniveaus omdat deze in principe lager dan, of gelijk zijn aan de MTR-niveaus. Detectie tot op deze niveaus zou alleen mogelijk zijn door de gecombineerde werking (combinatietoxiciteit) van meerdere stoffen met eenzelfde werkingsmechanisme, bijvoorbeeld in het geval van een mengsel van verschillende organofosforbestrijdingsmiddelen.

Eigenlijk doet deze vraag geen recht aan de toepasbaarheid van biomonitoringstechnieken. De huidige normen zijn namelijk opgesteld voor stoffen (chemie gericht), en niet voor uitkomsten van biomonitoringonderzoek. De inzet van biomonitoringstechnieken geeft complementaire informatie namelijk over de biologische beschikbaarheid en de gecombineerde werking van alle aanwezige verontreinigingen. Het valt dan ook te overwegen om een zekere mate van 'effect'-normering in te voeren, om zo de beperkingen van een puur chemisch gerichte beoordeling te verkleinen.

### 6.1.3 Voldoet keuzesysteem aan randvoorwaarden?

*Is een locatie- en stofgroepspecifieke beoordeling mogelijk?*

Het ontwikkelde keuzesysteem is locatie- en stofgroepspecifiek, omdat de lokale situatie alsmede de aanwezige kennis van de problematische stofgroepen van directe invloed is op de volgens het keuzesysteem geselecteerde technieken. In de praktijktoetsen was echter in de meeste gevallen geen sprake van een duidelijke relatie tussen de resultaten van chemische analyses en die van ecotoxicologische testen. Zo kon het voorkomen dat effecten op basis van de chemische analyses wel werden verwacht, maar niet werden aangetoond, óf dat effecten juist niet werden verwacht maar wel werden aangetroffen. Hiervoor zijn verschillende verklaringen mogelijk, zoals verschillen in biologische beschikbaarheid, de aanwezigheid van 'modifying factors', het optreden van



fluctuaties in de concentraties tijdens de testen (m.b.t. de veldbioassays) of een te beperkt chemisch analysepakket. Het ontbreken van een duidelijke relatie tussen chemie en ecotoxicologie moet echter niet als een tekortkoming van biologische monitoring worden gezien. Het vormt juist een illustratie voor het feit dat bij het beoordelen en monitoren van de huidige kwaliteit van het oppervlaktewater resultaten van chemische analyses en biologische testen elkaar aanvullen, in plaats van elkaar uitsluiten dan wel overbodig maken.

*Worden de biomonitoringstechnieken zo kosten-effectief mogelijk toegepast?*

Om aan deze voorwaarde te voldoen biedt het keuzesysteem de gelegenheid om naast de strikt wetenschappelijke opties ook een aantal meer beleidsmatige keuzen te implementeren. Daarnaast vormt het van te voren inschatten van de te verwachten effecten (op basis van historische kennis over de aanwezige concentraties en inzicht in de gevoeligheid van de testorganismen voor specifieke verbindingen) een essentieel onderdeel van het keuzesysteem, en wordt hiermee de kosten-effectiviteit aanzienlijk verhoogd.

In de praktijktoetsing bleken in een aantal gevallen de actuele concentraties in het oppervlaktewater (veel) lager dan verwacht op basis van de historische informatie. Het aantonen van acuut toxische effecten was daarom niet altijd mogelijk, ondanks het feit dat de kans hierop van te voren als 'redelijk' was ingeschat. Bij een verdere toepassing van dit keuzesysteem in de praktijk dient daarom in gevallen waar geen sprake is van een complex mengsel, wanneer de betrouwbaarheid en representativiteit van de beschikbare chemische analyses onvoldoende zeker is, eerder tot het inzetten van een testbatterij besloten te worden, om zo het risico dat effecten niet kunnen worden aangetoond te verminderen. Daarna kan de periodieke biomonitoring worden vervolgd met de in praktijk meest gevoelig gebleken techniek voor de betreffende locatie.

*Is het keuzesysteem logisch?*

De inzichtelijkheid van het keuzesysteem is geoptimaliseerd door de te nemen beslissingen kort en bondig te formuleren, de hiervoor benodigde gegevens met aparte symbolen aan te geven en (indien mogelijk) dezelfde onderdelen op verschillende plekken te laten terugkomen. De vraag of het keuzesysteem logisch is zal echter pas definitief beantwoord kunnen worden, nadat een aantal waterbeheerders dit keuzesysteem heeft uitgeprobeerd.

## 6.2 Conclusies

De conclusies van dit onderzoek luiden:

- Een keuzesysteem is ontwikkeld dat geschikt is om op een locatiespecifieke, stofspecifieke en kosten-effectieve wijze toxiciteit in oppervlaktewater te kunnen monitoren wanneer dit in ernstige mate verontreinigd is met zware metalen en/of bestrijdingsmiddelen. Als zodanig is een beoordeling van de actuele waterkwaliteit, gericht op het waarnemen van toxiciteit, mogelijk. Verdere toepassing in de praktijk is echter noodzakelijk om het keuzesysteem te valideren;
- Detectie van specifieke verontreinigingen lijkt alleen mogelijk in het geval dat deze verontreinigingen in ruime mate de (chemische) normen overschrijden, of in het geval dat meerdere verontreinigende stoffen met eenzelfde werkingsmechanisme deze normen overschrijden. Voor detectie van lagere concentraties zijn gevoeligeren technieken nodig zoals biomarkertesten, of dient het oppervlaktewater te worden geconcentreerd. Deze technieken zijn op dit moment echter nog volop in ontwikkeling en zijn daarom nog niet geselecteerd;
- Het ontwikkelde keuzesysteem is niet geschikt om te kunnen beoordelen of voldaan wordt aan de geldende (chemische) normen voor individuele stoffen. Biologische monitoring vormt dus geen alternatief voor de chemische monitoring. Het nut van het toepassen van biomonitoringstechnieken is juist dat complementaire informatie wordt verkregen over de biologische beschikbaarheid en de gecombineerde werking van alle aanwezige verontreinigingen en dus



niet alleen over het beperkte aantal stoffen dat chemisch wordt geanalyseerd. Wel kan worden overwogen om biologische monitoring als eerste stap toe te passen, om vervolgens alleen die monsters chemisch te analyseren die daadwerkelijk toxische effecten laten zien;

- Voor het keuzesysteem zijn biomonitoringstechnieken geselecteerd die op dit moment (medio 1997) als 'meest geschikt' zijn aangemerkt. Van deze technieken zijn routinematig toepasbaar:
  - acute bacterie-, watervlooiën- en Rotoxkit F-test (lab-bioassays);
  - watervlooiën veldbioassay;
  - dynamische Daphniatest en mosselmonitor (biologische bewakingssystemen);Nog niet voldoende doorontwikkeld of gevalideerd voor routinematig gebruik zijn:
  - acute algentest (lab-bioassay) (benodigde aanpassing samenstelling blancomedium);
  - kroostest en muggenlarve veldbioassay;
  - DF-Algentest (biologisch bewakingssysteem);Deze technieken zijn toch geselecteerd omdat ze veelbelovend zijn.

### 6.3 Aanbevelingen

Naar aanleiding van de resultaten van het voorliggende onderzoek zijn de volgende aanbevelingen geformuleerd ten aanzien van het monitoren van toxische effecten in oppervlaktewater:

- Doorontwikkeling van de acute algentest, de kroostest, de muggenlarve veldbioassay en de DF-Algentest;
- Wanneer technieken voor het concentreren van oppervlaktewater voldoende zijn doorontwikkeld en gevalideerd (schatting: binnen nu en 5 jaar), deze gebruiken om zo ook lagere dan piekconcentraties te kunnen detecteren met de geselecteerde lab-bioassays. Bovendien kan door het kiezen van specifieke concentreringstechnieken de stofspecificiteit worden verhoogd;
- Wanneer biomarkertesten voldoende zijn doorontwikkeld en gevalideerd (schatting: binnen nu en 5 jaar), deze (eventueel in combinatie met een concentreringsstap) opnemen in het keuzesysteem en gebruiken om ook lagere dan piekconcentraties te kunnen detecteren;
- Herhaalde toepassing van de technieken op dezelfde locatie om zo beter inzicht te krijgen in de invloed van seizoensfluctuaties op het gemeten effect, zodat daarna de ecologische relevantie beter kan worden beoordeeld;
- 'Up to date' houden van de gegenereerde overzichten met toxiciteitsdata;
- Invoering van een zekere mate van 'effect'-normering, om zo de beperkingen van een puur chemisch gerichte beoordeling te verkleinen.

## 7 BEGRIPPENLIJST

Verklaringen van de woorden en begrippen zijn specifiek voor deze rapportage en zijn dus niet in alle gevallen algemeen geldend.

**accumulatie** *Zie bioaccumulatie;*

**actieve (bio)monitoring** Het blootstellen van een (groep van) - gevoelig(e) - organisme(n) in de veldsituatie of het laboratorium aan oppervlaktewater waarna veranderingen worden bestudeerd bij dit (deze) organisme(n). Hierbij wordt altijd gebruik gemaakt van een experimentele opstelling. In het geval van blootstelling in het laboratorium wordt een monster van het te monitoren oppervlaktewater getransporteerd naar dit laboratorium;

**acuut (bioassay/effect/toxiciteit)** Heeft betrekking op de duur van de bioassay of de tijdsperiode waarbinnen een effect kan worden waargenomen. Dit kan zijn enkele minuten tot enkele dagen. Meestal wordt alleen gekeken naar de sterfte;

**afbraak** De eigenschap van een stof/verbinding om te transformeren in moleculaire componenten;

**afvalwater** De algemene aanduiding voor zowel effluenten, uitloogmateriaal als elutriaat;

**bentische organismen** Organismen die in het sediment leven;

**beoordeling** Evaluatie van de fysische, chemische en biologische analyseresultaten in relatie tot van te voren opgestelde ecologische en of humane beoordelingscriteria;

**beoordelingscriteria** Criteria opgesteld voor ecologische of humane kwaliteitsdoelen;

**betrouwbaarheid** Maat die iets zegt over de 'hardheid' van het resultaat van een analyse (chemisch of bioassay);

**bioaccumulatie** Het proces van ophoping van toxicanten in organismen;

**bioaccumulatiemonitoring** Het meten/detecteren van chemische stoffen in biologisch materiaal;

**bioaccumulatietest** Bioassay waarin de mate van bioaccumulatie wordt bestudeerd;

**bioassays** Laboratoriumexperimenten waarin (meestal) lagere diersoorten worden blootgesteld aan een (extract van een) te beoordelen water(bodem)monster. Het doel van bioassays is het beoordelen of de aanwezige verontreinigingen in het monster in die mate beschikbaar zijn dat ze negatieve effecten veroorzaken bij deze dieren (testorganismen). Een negatief effect is bijvoorbeeld de remming van de groei of reproductie of in het uiterste geval sterfte. De in bioassays gehanteerde parameters zijn representatief voor organismen in het veld, voldoende onderscheidend, eenvoudig te meten, reproduceerbaar en relatief goedkoop en toepasbaar;

**biochemische indicator** *Zie biomarkers;*

**biokorf** Een door het RIZA ontwikkelde roestvrijstalen testkooi waarin bijvoorbeeld watervlooien of muggenlarven in het veld kunnen worden uitgehangen en aldus worden blootgesteld aan (verontreinigd) oppervlaktewater of sediment (waterbodem);

**biologische afbraak** Een door enzymen gekatalyseerde afbraak van een verbinding;

**biologisch beschikbare fractie** Het deel van een toxicant in oppervlaktewater dat kan worden opgenomen door levende organismen;

**biologische bewakingssystemen** Biologisch testsysteem waarmee oppervlaktewater continu kan worden gemonitord en zo een vroege detectie (gevolgd door een alarmering) van (pieken in de concentraties van) toxicanten kan worden gerealiseerd. Hiermee wordt dus een continu inzicht in de kwaliteit van het oppervlakte verkregen (bijvoorbeeld bij belangrijke inlaatpunten van oppervlaktewater);

**biologische monitoring** *Zie biomonitoring;*

**biomagnificatie** Ophoping van toxicanten in hogere organismen (vogels en zoogdieren) via de voedselketen;

**biomarkers** De subletale biochemische, fysiologische of pathologische respons van individuele organismen na blootstelling aan milieuvreemde stoffen;

**biomonitor** *Zie biomonitoring;*



- biomonitoring** Stelselmatig gebruik maken van een biologische respons om (in het algemeen door de mens veroorzaakte) veranderingen in het milieu te detecteren met als doel het gebruiken van deze informatie voor waterkwaliteitsbeheer;
- biotische indices** Het gebruik van biota om de kwaliteit van het milieu weer te geven;
- carcinogeen** Het indiceren van gezwellen door chemische, fysische of biologische oorzaken;
- chromogeen substraat** Kleurloze verbinding die door biologische afbraak (*zie* biologische afbraak) wordt omgezet in een gekleurd afbraakproduct;
- chronisch (bioassay/effect)** Heeft betrekking op de duur van de bioassay of de tijdspanne waarbinnen een effect kan worden waargenomen. Lengte van de bioassay beslaat een belangrijk deel van de levensduur van het betreffende testorganisme. Een effect kan dus pas binnen een aantal dagen tot weken worden waargenomen. In dit type bioassay worden meestal subletale parameters bestudeerd zoals reproductie, ontwikkeling of groei;
- combinatietoxiciteit** De gecombineerde toxische inwerking van meerdere stoffen tegelijk;
- complex mengsel** Een watermengsel dat bestaat uit vele verschillende stoffen/verbindingen;
- concentratie** De hoeveelheid van een stof in het milieu (water, bodem of lucht);
- continue (bio)monitoring** Het voortdurend, zonder onderbreking (bio)monitoren van de kwaliteit van oppervlaktewater;
- controle** Simultaan in bioassay getest monster bestaande uit hetzelfde verdunningsmedium als in de testconcentraties, echter in afwezigheid van een toxicant;
- dosis** Een absolute hoeveelheid stof toegediend aan een proefdier;
- dosis-effect-relatie** Bij een toename in de hoeveelheid toxicant neemt (in theorie) ook de mate van effect in een bioassay toe volgens een bepaalde relatie. Aanduiding wordt gemakshalve ook gebruikt wanneer organismen niet worden blootgesteld aan een dosis maar aan een bepaalde concentratie van een toxicant. Strikt genomen is in dit geval echter sprake van een concentratie-effect-relatie;
- early warning** Slaat op het biomonitoren van oppervlaktewater met als doel het tijdig (vroeg) detecteren van plotselinge veranderingen in de waterkwaliteit, gevolgd door een alarmmelding;
- EC<sub>50</sub>** Effect Concentratie: geschatte concentratie toxicant waarbij de helft van de testorganismen een bepaald effect laat zien (bijvoorbeeld immobiliteit) na een bepaalde blootstellingsduur;
- ecologische relevantie** Belang van een soort voor het voortbestaan van de rest van de soorten waarmee deze soort een levensgemeenschap vormt;
- ecosysteem** Verzameling van op een en dezelfde plaats voorkomende populaties (micro-organismen, planten en dieren) die daardoor met elkaar en met het omringende fysische en chemische milieu interacties kunnen aangaan en aldus een functionele eenheid vormen;
- ecosysteemmonitor(ing)** Het monitoren van de biologische respons van een ecosysteem op chemische veranderingen in het oppervlaktewater. Dit omvat inventarisaties van de soortensamenstelling, dichtheid, diversiteit, aanwezigheid van indicatorsoorten, ecologische indices etc.;
- ecotoxiciteit** De eigenschap van een milieuvreemde stof om negatieve effecten te veroorzaken in een ecosysteem;
- ecotoxicologie** De studie naar door chemische en fysische factoren veroorzaakte toxische effecten bij levende (individuele) organismen, populaties en levensgemeenschappen in een ecosysteem. Deze studie omvat ook de doorgifte van deze factoren en hun interactie met het omringende milieu;
- effect** Het resultaat voor een gedefinieerd eindpunt (*zie* eindpunt) na blootstelling van een testorganisme aan een toxische stof;
- eindpunt** De belangrijkste parameter die bestudeerd wordt in een bioassay (bijv. L(E)C of NOEC-waarde);



**geldigheidscriteria** Criteria opgesteld voor abiotische en biologische parameters waaraan moet worden voldaan om de meetresultaten van een bioassay te mogen classificeren en beoordelen;

**genotoxiciteit** De eigenschap om schade te veroorzaken in genetisch materiaal zoals mutaties (zie mutageniteit) die leiden tot chromosoomschade etc. Deze schade kan mogelijk leiden tot kanker;

**gevoelig testorganisme/bioassay** Testorganisme/bioassay die reeds bij blootstelling aan een relatief lage concentratie toxicant een negatief effect laat zien;

**grenswaarde** Korte termijn (2000) tussendoelstelling ten aanzien van de algemene milieukwaliteit van oppervlaktewater en waterbodem. Hiervoor geldt een inspanningsverplichting van de waterbeheerder: deze moet het mogelijke doen om de doelstelling binnen de gestelde termijn te realiseren;

**halofiel** zoutminnend;

**hydrofoob** waterafstotend;

**I-lijst** Lijst van stoffen uit de Evaluatienota Water die op projectmatige basis worden gemeten (Inventariserend);

**image-processing** Analyse van fotografische of video-opname m.b.v. computerapparatuur. Analyse slaat bijvoorbeeld op het tellen van het aantal kroosplantjes in de krooestest;

**indicator(soort)** Een organisme (plant of dier) dat via passieve monitoring op enigerlei wijze informatie verstrekt over de (mate van) blootstelling aan toxicanten in het veld;

**interventiewaarde** Doelstelling ten aanzien van de algemene milieukwaliteit van oppervlaktewater water- en landbodem. Overschrijding hiervan moet in principe leiden tot directe actie;

**in vitro** het kweken of testen van weefsel buiten het lichaam (in glas, vitrum=glas)

**in vivo** 'in levende toestand', testen uitgevoerd met een geheel organisme

**lab(oratorium)-bioassays** Zie bioassays;

**LC<sub>50</sub>** Letale Concentratie: geschatte concentratie toxicant waarbij de helft van de testorganismen zou sterven na een bepaalde blootstellingsduur;

**LOEC** Lowest Observed Effect Concentration: De testconcentratie met de laagste hoeveelheid toxicant waarbij een significant verschil kan worden aangetoond in vergelijking met de controle;

**matrix** (Letterlijk moederbodem of kiemlaag) Uitgangsmateriaal: sedimentmonster voor sanering;

**milieuhygiënische beoordeling** Beoordeling van de potentiële toxiciteit van sedimentmonsters;

**milieumonster** Porie-, grond-, oppervlakte- en afvalwater, grond, sediment, lucht etc.;

**M-lijst** Lijst van stoffen uit de Evaluatienota Water die regelmatig dienen te worden gemeten (Monitoring);

**modifying factors** Het geheel van biologische en abiotische factoren die, naast de aanwezigheid van een bepaalde toxicant, van invloed zijn op het resultaat van een bioassay;

**monitoring** Zie biomonitoring;

**multispecies-test** Test waarin in één systeem gelijktijdig méér dan een organisme wordt blootgesteld aan een toxicant (zie verder bij 'bioassay');

**mutageniteit** De eigenschap van een chemische stof om mutaties in het erfelijk materiaal te veroorzaken;

**mutageniteitsmonitor(ing)** Het beoordelen van het oppervlaktewater op de aanwezigheid van mutagene of genotoxische stoffen;

**negatief effect** Veranderingen in de morfologie, fysiologie, groei, ontwikkeling of levensduur van een organisme die leiden tot een verminderd functioneren;

**NEL** No Effect Level: De reële hoogste concentratie toxicant waarbij géén significant verschil kan worden aangetoond in vergelijking met de controle.



- NOEC** *No Observed Effect Concentration*: De testconcentratie met de grootste hoeveelheid toxicant waarbij géén significant verschil kan worden aangetoond in vergelijking met de controle;
- norm** Maximaal geoorloofde concentratie van een toxische stof in het oppervlaktewater;
- normaalwaarde** Waarde of bandbreedte van waarden die een biologische parameter kan aannemen onder relatief schone (= niet verontreinigde) omstandigheden;
- opnamekinetiek** Wijze van opname van toxicanten (passief of actief) door testorganismen;
- oppervlaktewater** Open water: meren, plassen, rivieren, sloten, kanalen e.d.;
- PAK** *Polycyclische aromatische koolwaterstof*;
- passieve (bio)monitoring** Hiervan is sprake wanneer uitsluitend gebruik wordt gemaakt van de in het veld aanwezige organismen zonder daarbij gebruik te maken van een van tevoren geïntroduceerde experimentele opstelling. Hierbij worden inventarisaties in het veld verricht, gericht op het vinden van effecten bij soorten (bijvoorbeeld aan- of afwezigheid van indicatorsoorten, samenstelling van levensgemeenschappen) of worden organismen verzameld om stofgehalten te bepalen (bioaccumulatie, interne concentratie);
- PCB** *Polychlorobifenyyl*;
- poriewater** Water dat zich in de natuurlijke poriën van het sediment bevindt. Dit water kan voor gebruik in bioassays worden gewonnen door uitpersen of centrifugeren;
- randvoorwaarden** Opgestelde criteria voor enkele fysisch/chemische parameters (temperatuur, zuurgraad, nitraat, nitriet, ammonium en chloride) waaraan voldaan moet worden gedurende de uitvoering van bioassays (*zie* ook bij *modifying factors*);
- ratio to reference** De gemeten waarde voor het effect na blootstelling aan een milieumonster (*zie* milieumonster) gedeeld door de gemeten waarde in het referentiemonster. Dit geeft dus het aantal malen overschrijding van het effect in het referentiemonster;
- referentie(monster)** Een niet verontreinigd (milieu)monster (*zie* milieumonster) met vergelijkbare karakteristieken als het gelijktijdig en op dezelfde wijze getest verontreinigde (milieu)monster;
- replica** Identiek en gelijktijdig ingezet testvaatje. Bij een toename in aantal replica's neemt ook de betrouwbaarheid van het testresultaat toe;
- reproduceerbaarheid** Mate van herhaalbaarheid van een bioassayresultaat;
- screening** De toepassing van een lab-bioassay om een globale indruk te krijgen over de toxiciteit van een milieumonster. Hierbij wordt meestal maar één testconcentratie beoordeeld (bijv. onverdund milieumonster) en vaak met minder dan het standaard aantal replica's of aantal testorganismen per replica;
- screeningstest(en)** Acute lab-bioassays toegepast t.b.v. screening (*zie* screening);
- sediment** Waterbodem;
- semi-continue monitoring** Het voortdurend, met slechts korte onderbrekingen (bijvoorbeeld ieder kwartier een test) (bio)monitoren van de kwaliteit van oppervlaktewater;
- single-species-test** Test waarin slechts één organisme wordt blootgesteld aan een toxicant (*zie* verder bij 'bioassay');
- standaardisatie** Mate van gelijkheid van herhaalde uitvoeringen van een biomonitoring techniek.
- stofspectifieke benadering** De beoordeling van de milieukwaliteit gebaseerd op de chemische concentratie en toxiciteit van individuele stoffen;
- steekmonster** Op een willekeurig moment genomen monster van het oppervlaktewater;
- streefwaarde** Lange termijn (2000+) doelstelling ten aanzien van de algemene milieukwaliteit van oppervlaktewater en waterbodem. Hiervoor geldt een inspanningsverplichting van de waterbeheerder: deze moet het mogelijke doen om de doelstelling binnen de gestelde termijn te realiseren;
- subleetaal** Iedere waarneembare (negatieve) verandering in het functioneren van een organisme met uitzondering van sterfte;



- taxonomisch verwante soorten** Soorten die wat betreft hun classificatie (afhankelijk van morfologische kenmerken) veel op elkaar lijken. Van deze soorten wordt aangenomen dat zij ook op elkaar zullen lijken wat betreft hun gevoeligheid voor toxicanten;
- techniek** Lab-bioassay, veldbioassay, biologisch bewakingssysteem, ecosysteemmonitor, bioaccumulatie-test of mutageniteitstest;
- testbatterij** Set van geselecteerde biomonitoringstechnieken die gelijktijdig worden ingezet. Hierbij wordt gestreefd naar de inzet van technieken die elkaar zo weinig mogelijk zullen overlappen wat betreft hun gevoeligheid voor bepaalde toxicanten (bijvoorbeeld gebruik makend van organismen van verschillende trofische niveaus);
- toxic unit** De concentratie toxicant in een (onverdund) sedimentmonster uitgedrukt als fractie van de  $L(E)C_{50}$ - of soms als fractie van de NOEC-waarde;
- toxicant** Stof die bij een bepaalde concentratie en blootstellingsduur verantwoordelijk is voor een verminderd functioneren van een testorganisme.
- toxiciteit (toxisch)** De intrinsieke mogelijkheid van een stof/verbinding om negatieve effecten (bijv. verminderde reproductie, groei of zelfs sterfte) te veroorzaken bij levende organismen die hieraan worden blootgesteld;
- toxiciteit- of effectmonitoring** Het meten/detecteren van de directe (biologische) respons van individuen op toxicanten. Dit omvat bioassays (in het laboratorium of in het veld), biologische bewakingssystemen (biomonitoren), maar ook waargenomen effecten in het veld, zoals het optreden van massale vissterfte e.d.;
- toxiciteitstest** Bioassay met als doel de beoordeling van één stof;
- Toxkit-test** Acute toxiciteitstest waarbij de testorganismen worden verkregen uit gedroogde cysten. Doordat gebruik wordt gemaakt van exact hetzelfde biologische materiaal, dezelfde levensstadia, verdunningsmedium, testvatjes etc., wordt een zeer hoge graad van standaardisatie bereikt;
- trofisch niveau** Indeling van soorten gebaseerd op de wijze van voedselverwerving;
- veldbioassay** Bioassay (zie (lab)bioassay) waarbij organismen gedurende een bepaalde tijd (bijv. 1 week) bijvoorbeeld in een biokorf (zie biokorf) in het veld worden blootgesteld aan oppervlaktewater;
- verzamelmonster** Over een bepaalde tijdsperiode (bijvoorbeeld één etmaal) genomen monster van het oppervlaktewater. Hierbij wordt per tijds- of debietseenheid een bepaalde hoeveelheid monster genomen (tijds- of debietsproportioneel monster) en vermengd met de reeds genomen hoeveelheid monster;
- XAD-(concentrering)** Aanduiding van een bepaalde harssoort die de eigenschap heeft om apolaire en matig polaire stoffen te adsorberen en aldus kan worden gebruikt voor het concentreren van organisch materiaal uit oppervlaktewater.



## 8 REFERENTIES

- Ahlf, W. (1985). Behaviour of sediment-bound heavy metals in a bioassay with algae: bioaccumulation and toxicity. *Vom Wasser* 65: 183-188.
- Ahlf, W., W. Calmano, J. Erhard & U. Förstner (1989). Comparison of five bioassay techniques for assessing sediment-bound contaminants. In: Munawar, M., G. Dixon, C.I. Mayfield, T. Reynoldson & M.H. Sadar. (eds). *Environmental Bioassay Techniques and Their Application*. Kluwer Academic Publishers. *Hydrobiologia* 188/189: 285-289.
- Ahlf, W., U. Dahm & S. Wild-Metzko (1991). Biologisches Bewertungskonzept für Sedimente. *Vom Wasser* 76: 215-223.
- AquaSense (1994). Beoordeling acute toxiciteit van XAD-geconcentreerd Maas- en afvalwater. Beoordeling met behulp van bioassays. In opdracht van: Samenwerkende Rijn- en Maaswaterleidingbedrijven (RIWA). AquaSense, Amsterdam. Rapport 94.0602.
- AquaSense (1995). Ecotoxicologische waardering van oppervlaktewater: vergelijking van testkits voor ecotoxicologische monitoring van oppervlaktewater in het Hoogheemraadschap van Rijnland. AquaSense, Amsterdam. afstudeerrapport 95.0705.
- AquaSense (1996). Verslag van 2<sup>e</sup> TOXKIT-dag. Amsterdam, 25 april 1996.
- ASTM American Society for Testing and Materials (1991). Standard guide for acute toxicity test with the rotifer *Brachionus*. ASTM E 1440. American Society for Testing and Materials, Philadelphia.
- Baier, C., K. Hurl & J. Kirchhoff (1985). Datensammlung zur Abschätzung des Gefährdungspotentials von Pflanzenschutzmittelwirkstoffen für Gewässer. Deutscher Verband für Wasserwirtschaft und Kulturbau e.V. (DVWK). Verlag Paul Parey, Hamburg und Berlin, Schriften 74, 294 p.
- Becker van Slooten, K, D. Rossel, A. Kunze, C. Pecoud, M. Gruber, J. Tarradallas & P. Vioget (1996). Ecotoxicological risk assessment of landfills. Presentation at the 4<sup>th</sup> European Conference on Ecotoxicology and Environmental Safety, SECOTOX '96, Metz, 25. - 29.8.96.
- Berends, P. A. van Broekhoven, E. Jagtman, H. Peters, P. van Rooy, E. Turkstra, S. de Wit & K. Wulffrat (1995). Ruimte voor water. Visienotitie als aanzet voor discussie. Projectteam NW4 Rijkswaterstaat.
- Borcherding, J. & M. Volpers (sine anno). Der 'Dreissena-monitor' - Erfahrungen mit dem neuen biologischen Frühwarnsystem. Arnhem, 1993, Symposium "Ecologisch Herstel van de Rijn.
- Borcherding, J. (1992). Die Schalenbewegung der Muschel *Dreissena polymorpha* als Monitorsystem zur Gewässerüberwachung. The valve movement response of *Dreissena polymorpha* - a tool for continuous water control. In: Steinhäuser, K.G. & P.D. Hansen. Biologische Testverfahren. Beiträge zu den Biotest-Statusseminaren 1989 und 1992. Schr.-Reihe Verein WaBoLu 89, Gustav-Fischer Verlag, Stuttgart: 361-373.
- Botterweg, J. (red.) (1996). RIZA Handboek: Toxicologie en lozingsvergunningen (concept). Hoofdafdeling Emissies-procestechnologie, Hoofdafdeling Watersystemen-ecotoxicologie. RIZA, Lelystad. Notanr. 96.045, ISBN-nr. 903695004X.
- Bund/Länder-Projektgruppe 'Wirkungstests Rhein' (WIR) (1995). Kontinuierliche Biotestverfahren zur Überwachung des Rheins. ISBN 3-503-03690-3. Umweltbundesamt, Berlin. 289p.
- Bundesministerium für Forschung und Technologie (1993). Biomonitoring zur kontinuierlichen Überwachung von Wasser und Abwasser. Bundesministerium für Forschung und Technologie. 48p.



- Burton, G.A., Jr. (1992). Plankton, macrophyte, fish, and amphibian toxicity testing of freshwater sediments. In: Burton, G.A., Jr. (ed.): Sediment toxicity Assessment. Lewis Publishers, Boca Raton, FL: 167-182.
- Burton, G.A., Jr., L. Burnett, M. Henry, S. Klaine, P. Landrum & M. Swift (1990). A multi assay comparison of sediment toxicity at three 'Areas of Concern'. Abstract, 11. Annual Meeting, Society of Environmental Toxicology and Chemistry, November 11-115, Arlington, VA: 53p.
- Calleja, M.C., G. Persoone & P. Geladi (1994). Comparative acute toxicity of the first 50 MEIC chemicals to aquatic non-vertebrates. Archives of Environmental Contamination and Toxicology: 26: 69-78.
- CCRX Coördinatie-Commissie voor Metingen in het Milieu (1994). Metingen in het milieu in Nederland 1992. Coördinatie-Commissie voor Metingen in het Milieu, Bilthoven.
- Commission of the European Communities, Directorate-General Environment, Nuclear Safety and Civil Protection (1993). Proposal for a Council Directive (EEC) on the ecological quality of water.
- Creasel (1990). ROTOXKIT F. Rotifer toxicity screening test for freshwater. Standard operational procedure. 22p.
- Creasel (1996a). DAPHTOXKIT F™. Crustacean toxicity screening test for freshwater. Standard operational procedure. 16p.
- Creasel (1996b). ALGALTOXKIT F™. Freshwater toxicity test with microalgae. Standard operational procedure. V110396, 29p.
- CUWVO Coördinatiecommissie Uitvoering Wet Verontreiniging Oppervlaktewateren, Werkgroep V-CUWVO (1994). Landelijke watersysteemrapportage 1993, fysisch-chemische en ecologische waterkwaliteit 1993. CUWVO.
- Dave, G. (1992). Sediment toxicity and heavy metals in eleven lime reference lakes of Sweden. Water, Air, and Soil Pollution 63: 187-200.
- Dienst Binnenwateren, RIZA (sine anno). Biologische bewaking van de waterkwaliteit. Info-blad nr. 11 van de Dienst Binnenwateren/RIZA, Lelystad.
- Delta Consult (1991). Mosselmonitor. Produktinformatie.
- DIN 38 412 (1991). Deutsche Einheitsverfahren zur Wasser-, Abwasser- und Schlamuntersuchung. Testverfahren mit wasserorganismen (Gruppe L). Bestimmung der hemmwirkung von Abwasser auf die Lichtemission von *Photobacterium phosphoreum* - Leuchtakterien - Abwassertest mit konservierten Bakterien (L34). DIN 38 412, Teil 34. Deutsche Einheitsverfahren zur Wasser-, Abwasser- und Schlamuntersuchung. Testverfahren mit wasserorganismen.
- Dr. Lange (1994). LUMISTox lichtbacteriëntoets. Verkorte handleiding volgens NVN 6516.
- Dr. Lange (1995). LUMISmini. Toxiciteit - nu ook als veldmeting mogelijk! Produkt informatie folder.
- Dutka, B.J., K.K. Kwan, S.S. Rao, A. Jurkovic & R. McInnis (1991). Use of bioassays to evaluate river water and sediment quality. Environmental Toxicology and Water Quality: An International Journal 6: 309-327.
- Elektron GmbH (1995). Dynamischer Daphnientest. Der Biomonitor für Wasser und Abwasser. Produkt informatiepakket.
- Gaggi, C., G. Sbrilli, A.M. Hasab El Naby, M. Bucci, M. Duccini & E. Bacci (1995). Toxicity and hazard ranking of s-triazine herbicides using Microtox, two green algal species and a marine crustacean. Environmental Toxicology and Chemistry, Volume 14, Nr. 6: 1065-1071.



GESAMP, IMO/FAO/UNESCO/WMO/WHO/IAEA/UN/UNEP Joint Group of Experts on the Scientific Aspects of Marine Environment Protection (1995). Biological Indicators and their Use in the Measurement of the Condition of the Marine Environment. Rep. Stud. GESAMP No. 55.

Gezondheidsraad (1994). Ecotoxicologie op koers. Advies van een commissie van de Gezondheidsraad. Publikatie nr. 1994/13. Gezondheidsraad, Den Haag.

Giesy, J.P. & R.A. Hoke (1990). Freshwater sediment quality criteria toxicity assessment. In: Baudo, R., J. Giesy & H. Muntau (eds.). Sediments, Chemistry and Toxicity of In-Place Pollutants. Lewis Publishers, Boca Raton, FL: 265-348.

Gorter, M. & J. Mangelaars (1994). Het water uitgevlood. Toxiciteittoetsen met watervlooien in het veld 1990-1993. Project OW93-12. Hoogheemraadschap van Delfland, Delft: 20p.

Gorter, M., B van de Wal & J. Mangelaars (1996). Veldtoets met watervlooien: een nuttige aanvulling op het chemisch onderzoek. *H<sub>2</sub>O* 29 (12): 354 - 357.

Great Lakes Water Quality Board (1988). Procedures for the assessment of contaminated sediment problems in the Great Lakes. International Joint Commission, Windsor, Ontario, Canada.

Grossmann, K., R. Berghaus & G. Retzlaff (1992). Heterotrophic cell suspension cultures for monitoring biological activity in agrochemical research. Comparison with screens using algae, germinating seeds and whole plants. *Pestic. Sci.* 35: 283-289.

Group 206 Technologies Inc. (1996). The FluoroMetPLATE™ Test format. Group 206 Technologies Inc. Gainesville, FL, USA.

Guzzella, L. & S. Galassi (1993). Chemical and toxicological characterisation of river water extracts with the *Vibrio fischeri* photobacterium. In: Hamilton, E.I. & J.O. Nriagu. The science of the total environment. Supplement 1993. Elsevier, Amsterdam: 1217-1226.

Hendriks, A.J. (1993). Kontinuierliche Wirkungstests. Interne memo Rijksinstituut voor Integraal Zoetwaterbeheer en Afvalwaterbehandeling, RIZA, Lelystad.

Hendriks, A.J. (ed.) (1994). Monitoring concentrations of micro contaminants and response of water fleas and fish in the Rhine delta. Rapport nr. 94.027 (ISBN 036902142). Rijksinstituut voor Integraal Zoetwaterbeheer en Afvalwaterbehandeling, RIZA, Lelystad. 62p.

Hendriks, A.J. & M.D.A. Stouten (1993). Monitoring the response of micro contaminants by dynamic *Daphnia magna* and *Leuciscus idus* assays in the Rhine delta: biological early warning as a useful supplement. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 1993, in press.

ISO 6341 (1989). Water Quality - Determination of the inhibition of the mobility of *Daphnia magna* Straus (Cladocera, Crustacea). International Organisation for Standardisation, Geneva, Switzerland.

ISO 8692 (1989). Water quality - fresh water algal growth inhibition test with *Scenedesmus subspicatus* and *Selenastrum capricornutum*. International Organisation for Standardisation. International Standard, First edition 1989: 11-15.

Janssen, C.R. & G. Persoone (1993). Rapid toxicity screening tests for aquatic biota. I. Methodology and experiments with *Daphnia magna*. *Environmental Toxicology and Chemistry* 12: 711-717.

Janssen-Mommen, J.P.M. & H.A. Jenner (1987). Eendekroos (*Lemna minor*) als fytonitor van zware metalen in het aquatisch milieu. Poster N.V. Kema, Symposium: "Voorspellen: modellen in de milieuchemie en de milieutoxicologie, 1987.

Jenner, H.A. (1991). Biomonitoring in chlorinating anti-fouling procedures in freshwater to achieve the lowest discharge concentrations reasonable. In: Delta Consult, Mosselmonitor Produktinformatie.



- Jenner, H.A. & J.P.M. Janssen-Mommen (1989). Phytomonitoring of pulverized fuel ash leachates by the duckweed *Lemna minor*. *Hydrobiologica* 188/189: 361-366.
- Jenner, H.A. & J.P.M. Janssen-Mommen (1993). Duckweed *Lemna minor* as a Tool for Testing Toxicity of Coal Residues and Polluted Sediments. *Archives of Environmental Contamination and toxicology* 25: 3-11.
- Jenner, H.A., D. de Zwart. & K. Kramer (1991). Monitoring water quality with bivalves. In: Delta Consult, Mosselmonitor. Produktinformatie.
- Jong, F.M.W., de & W.F. Bergema (1994). Field bioassays for side-effects of pesticides. CML report 112. Centre of Environmental Science (CML) Leiden University, Leiden: 151p.
- Jung, K., G. Bitton & B. Koopman (1996). Selective assay for heavy metal toxicity using a fluorogenic substrate. Short communication. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 15 (5): 711-714.
- Kaiser, K.L.E. & J. Devillers (1994). Ecotoxicity of chemicals to *Photobacterium phosphoreum*. Gordon and Breach Science Publishers, Amsterdam. 879 p.
- Kamps-Mulder, M.A.A.J., A.J. Hendriks & C. Van de Guchte (1996). Ontwikkeling van de Biokorf voor de biologische waterkwaliteitsbeoordeling van oppervlaktewater. Experimenten in laboratorium en veld met dimethoaat en de watervlo *Daphnia magna* (Crustacea). *H<sub>2</sub>O* 29 (22): 668-670.
- Kramer, K.J.M., H.A. Jenner & D. de Zwart (1989). The valve movement of mussels: a tool in biological monitoring. In: Munawar, M., G. Dixon, C.I. Mayfield, T. Reynoldson & M.H. Sadar (1989). *Environmental bioassay techniques and their application*. Proceedings of the 1<sup>st</sup> International Conference held in Lancaster, England, 11-14 July 1988. Kluwer Academic Publishers: 433-443.
- Kramer, K.J.M. & J. Botterweg (1991). Aquatic biological early warning systems: an overview. In: *Bioindicators and Environmental Management*. ISBN 0-12-382590-3. Academic Press Limited: 95-126.
- Léon, C.D. (1993). Kwaliteit van en herstelparameters voor chemisch belaste ecosystemen. ISSN: 0928-6888. IBN-rapport 010. Instituut voor Bos- en Natuuronderzoek, Wageningen: 155p.
- Linders, J.B.H.J., J.W. Jansma, B.J.W.G. Mensink & K. Otermann (1994). Pesticides: Benefaction or pandora's box? A synopsis of the environmental aspects of 243 pesticides. Report no. 679101014. Rijksinstituut voor Volksgezondheid en Milieuhygiene, RIVM, Bilthoven: 204p.
- Lockhart, W.L., B.N Billeck & C.L. Baron (1989). Bioassays with a floating aquatic plant (*Lemna minor*) for effects of sprayed and dissolved glyphosate. In: Munawar, M., G. Dixon, C.I. Mayfield, T. Reynoldson & M.H. Sadar (1989). *Environmental bioassay techniques and their application*. Proceedings of the 1<sup>st</sup> International Conference held in Lancaster, England, 11-14 July 1988. Kluwer Academic Publishers: 353-359.
- Luttik, R., R.A. Baumann & B. van der Wal (1991). Bestrijdingsmiddelen in oppervlaktewater van het Westland (1989/'90). Rapport nr: 711001007. Rijksinstituut voor Volksgezondheid en Milieuhygiene, RIVM, Bilthoven. 88p.
- Maas, J.L. (1995). Interne memo Rijksinstituut voor Integraal Zoetwaterbeheer en Afvalwaterbehandeling, RIZA, Lelystad. WSC Ecotoxicologie.
- Maas, J.L., A. Naber & J. Botterweg (1994). Toxiciteit en mutageniteit van acht industriële effluënten voor zoetwaterorganismen. Vergelijking van de gevoeligheid van zoet- en zoutwaterorganismen. Werkdocument nr. 93.171X, Rijkswaterstaat, RIZA, Lelystad.



- Maas, J.L., C. van de Guchte & F.C.M Kerkum (1993). Methodebeschrijvingen voor de beoordeling van verontreinigde waterbodems volgens de TRIADE benadering. Methodebeschrijving voor enkele bioassays, bioaccumulatiemetingen en veldstudies. Notanr. 93.027. Rijksinstituut voor Integraal Zoetwaterbeheer en Afvalwaterbehandeling, RIZA, Lelystad. 74p.
- Maas-Diepeveen, J.L. & C. van de Guchte (1990). Ecotoxicologische testen voor de beoordeling van verontreinigde waterbodems. Methode beschrijvingen. Werkdocument nr. 90 173X. Rijksinstituut voor Integraal Zoetwaterbeheer en Afvalwaterbehandeling, RIZA, Lelystad. 1-58.
- Michaelidou, S.C., P. Piera & S. Nicolaou (1994). Pesticides in water: evaluation of their combined toxic effects as an effective tool for a sustainable agriculture. Environmental Chemistry & Ecotoxicology, State General Laboratory, Nicosia, Cyprus. Setac symposium 1994, Copenhagen.
- Microbics (1992). Microtox® manual. Volume 3, Condensed protocols, 1992 edition. Microbics corporation, Carlsbad, CA, USA.
- Miller, W.E., S.A. Peterson, J.C. Greene & C.A. Callahan (1985). Comparative toxicology of laboratory organisms for assessment of hazardous waste sites. Journal of Environmental Quality 14: 569-574.
- Ministerie van Verkeer en Waterstaat (1989). Water voor nu en later, derde Nota waterhuishouding. Regeringsbeslissing. Tweede Kamer, vergaderjaar 1988-1989, 2150, nrs. 1-2.
- Ministerie van Verkeer en Waterstaat (1994). Evaluatienota Water. Regeringsbeslissing. Aanvullende beleidsmaatregelen en financiering 1994-1998. Tweede Kamer, vergaderjaar 1993-1994, 21 250, nrs. 27-28.
- Ministerie van Verkeer en Waterstaat (1995). Visienotitie 'Ruimte voor Water', discussiestuk in de aanloop naar de vierde Nota waterhuishouding.
- Mulder, M.A.A.J. (1993). Interpretatie en vergelijk van ecotoxicologische toetsen voor urgentie bepaling van saneringsonderzoek in enkele regionale wateren in Noord-Holland. Werkdocument 93.145X. Rijksinstituut voor Integraal Zoetwaterbeheer en Afvalwaterbehandeling, RIZA, Lelystad. 43p.
- Munawar, M., G. Dixon, C.I. Mayfield, T. Reynoldson & M.H. Sadar (1989). Environmental bioassay techniques and their application. Proceedings of the 1st International Conference held in Lancaster, England, 11-14 July 1988. Kluwer Academic Publishers.
- Munkittrick, K.R., E.A. Power & G.A. Sergy (1991). The relative sensitivity of Microtox, Daphnid, Rainbow Trout, and Fathead Minnow Acute Lethality Tests. Environmental Toxicology and Water Quality 6: 35 - 62.
- Murphy, S.R. & J.C. Balogh (1993). DATATOX V2.0. Toxicity & Chemical fate, Personal computer system. Spectrum Research Inc., Duluth, Minnesota.
- Naber, A. & E.M.M. Grootelaar (1994). Ontwikkeling veldbioassay ten behoeve van lab- en veldextrapolatie met de kweeklarve *Chironomus riparius* (Diptera). Werkdocument nr. 94.111X, WSCE nr. 94-07. Rijksinstituut voor Integraal Zoetwaterbeheer en Afvalwaterbehandeling, RIZA, Lelystad.
- Nebeker, A.V., Cairns, M.A., Gakstatter, J.H., Malueg, Schuyttema, G.S. & Krawczyk, D.F. (1984). Biological methods for determining toxicity of contaminated freshwater sediments to invertebrates. Environmental Toxicology and chemistry 3: 617-630.
- NEN 6501 (1980). Water. Bepaling van de acute toxiciteit met behulp van *Daphnia magna*. Nederlands Normalisatie Instituut, Delft.
- NEN 6506 (1984). Water - Bepaling van de acute toxiciteit met behulp van algen. Nederlands Normalisatie Instituut, Delft.



- Noij, Th.H.M. & M.A. Meerkerk (red.) (1995). Toxicologisch en ecologisch onderzoek van de Rijn in 1994 in relatie tot drinkwaterbereiding. In opdracht van de Samenwerkende Rijn- en Maaswaterleidingbedrijven RIWA.
- Noordhuis, R. (red.) (1995). Biologische monitoring zoete rijkswateren. Jaarrapportage 1993. Nota nr. 95.002 Rijksinstituut voor Integraal Zoetwaterbeheer en Afvalwaterbehandeling, RIZA, Lelystad.
- Noppert, F. & A.J. Hendriks (1995). Bewaking van oppervlaktewater met vissen en watervlooien. Praktijkervaringen op Rijn en Maas in de periode 1988-1992. H2O 28(4): 112-114.
- Norusis, M.J. (1992). SPSS® for Windows™. Base System User's Guide, Release 5.0. SPSS Inc. Chicago.
- NVN 6516 (1993). Water. Bepaling van de acute toxiciteit met behulp van *Photobacterium phosphoreum*. Nederlands Normalisatie Instituut, Delft.
- OECD 201 (1984). Alga, growth inhibition test. OECD guideline for testing of chemicals. OECD, Paris, France, 201 adopted 7.07.84.
- OECD 202 (1984). *Daphnia* sp., acute immobilisation and reproduction test. OECD guideline for testing of chemicals. OECD, Paris, France, 202 adopted 04.04.84.
- OECD 202 part II (1993). Draft OECD test guideline 202 part II, *Daphnia magna* reproduction test to be used in the final ring test. Paris, France.
- Oosthoek, A.J.P. (1996). De Delayed Fluorescence algenmonitor: Operationaliseren voor implementatie in het biologisch meetnet. Werkdocument 96.145X. Rijksinstituut voor Integraal Zoetwaterbeheer en Afvalwaterbehandeling, RIZA, Lelystad.
- Ordelman, H.G.K., P.C.M. van Noort, J.M. van Steenwijk, T.E.M ten Hulscher & H.G. Evers (1993a). Watersysteemverkenningen 1996. Een analyse van de problematiek in aquatisch milieu. Triazinen. Anilazen, atrazin, cyanazin, cyromazin, desmetryn, prometryn, propazin, simazin, terbutryn, terbutylazin. Rijksinstituut voor Integraal Zoetwaterbeheer en Afvalwaterbehandeling, RIZA, Lelystad. 138p.
- Ordelman, H.G.K., P.C.M. van Noort, J.M. van Steenwijk, T.E.M ten Hulscher, M.A. Beek, J. Botterweg, R. Faasen, P.C.M. Frintrop & H.G. Evers (1993b). Watersysteemverkenningen 1996. Een analyse van de problematiek in aquatisch milieu. Dithiocarbomaten. Mancozeb, maneb, metam-natrium, metiram, natrium- dimethyldithiocarbamaat, thiram, tri-allaat, zineb, ziram, Rijksinstituut voor Integraal Zoetwaterbeheer en Afvalwaterbehandeling, RIZA, Lelystad. 119p.
- Ordelman, H.G.K., P.B.M. Stortelder, T.E.M ten Hulscher, F.H. Wagemaker, J.M. van Steenwijk, J. Botterweg, P.C.M. Frintrop & H.G. Evers (1993c). Watersysteemverkenningen 1996. Een analyse van de problematiek in aquatisch milieu. Carbamaten. Rijksinstituut voor Integraal Zoetwaterbeheer en Afvalwaterbehandeling, RIZA, Lelystad. 137p.
- Ordelman, H.G.K., P.C.M. van Noort, J.M. van Steenwijk, J.E.M. Beurskens, R. Faasen, M.A. Beek & E.H.G. Evers (1994a). Watersysteemverkenningen 1996. Een analyse van de problematiek in aquatisch milieu. Fenolherbiciden. Dinoseb, Dinoterb, DNOC. Rijksinstituut voor Integraal Zoetwaterbeheer en Afvalwaterbehandeling, RIZA, Lelystad. 98p.
- Ordelman, H.G.K., P.C.M. van Noort, T.E.M. Hulscher, M.A. Beek, J.M. van Steenwijk, P.C.M. Frintrop & E.H.G. Evers (1994b). Watersysteemverkenningen 1996. Organofosforbestrijdingsmiddelen, een analyse van de problematiek in aquatisch milieu. Rijksinstituut voor Integraal Zoetwaterbeheer en Afvalwaterbehandeling, RIZA, Lelystad. 186p.



- Persoone, G., M. Goyvaerts, C. Janssen, W. de Coen & M. Vangheluwe (1993). Cost-effective acute hazard monitoring of polluted waters and waste dumps with the aid of toxkits. Final report. Commission of the European communities contract: ACE 89/BE 2/D3. Universiteit Gent, Laboratory for Biological Research in Aquatic Pollution, Gent. 50p.
- Persoone, G., C. Janssen, W. de Coen & M. Latif (1994). Cyst-based toxicity tests XI: Comparison of the sensitivity of the acute *Daphnia magna* test and two crustacean microbioassays for chemicals and wastes. Submitted to Chemosphere.
- Plassche, E.J. van de, J.E.M. van Koten-Vermeulen & J.H. Canton (1990). Bestrijdingsmiddelen in oppervlaktewater van het Westland en het akkerbouwgebied in de Haarlemmermeer. Rapport nr. 638812004. Rijksinstituut voor Volksgezondheid en Milieuhygiëne, RIVM, Bilthoven. 29p.
- Retzlaff, G. (1993). Growth rate determination of *Lemna* by video scan of the leaf surface area. In: Böger. & Sandmann (Eds.). Target assays for modern herbicides and related phytotoxic compounds. Lewis publishers. Chapter 34: 251-256.
- Rijksinstituut voor Integraal Zoetwaterbeheer en Afvalwaterbehandeling RIZA & Haskoning (1990). Biologische effectparameters als indicatoren voor verontreinigde waterbodems.
- Rosenberg, D.M. & V.H. Resh (1993). Freshwater biomonitoring and benthic macro invertebrates. Chapman & Hall, London. 488p.
- Ruiter, H. de (1995). Effecten van Maas- en Rijnwater op de populatiedynamica van *Daphnia magna*. LUW, Wageningen rapport nr. 051/95, RIZA, Lelystad, Werkdocument nr. 95.165x.
- Runia, W.Th, M. Leistra & N.A.M. van Steekelenburg (1996). Uitspoeling van chemische gewasbeschermingsmiddelen in grondgebonden teelten. Proefstation voor Bloemisterij en Glasgroente, Vestiging Naaldwijk, project 3411, Naaldwijk, augustus 1996.
- Schiewe, M.H., E.G. Hawk, D.I. Actor & M.M. Krahn (1985). Use of a bacterial bioluminescence assay to assess toxicity of contaminated marine sediments. Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Science 42: 1244-1248.
- Schuytema, G.S., P.O. Nelson, K.W. Malueg, A.V. Nebeker, D.F. Krawczyk, A.K. Ratcliff & J.H. Gakstatter (1984). Toxicity of cadmium in water and sediment to *Daphnia magna*. Environmental Toxicology and Chemistry 3 (2): 293-308.
- Slooff, W., H.J. Bremmer, J.M. Hesse & A.J.C.M. Matthijssen (eds.) 1991. Basisdocument chloorbenzenen. Rapport nummer 710401005. Rijksinstituut voor Volksgezondheid en Milieuhygiëne, RIVM, Bilthoven, april 1991, 83 p.
- Smith, S. & M.K.H. Kwan (1989). Use of aquatic macrophytes as a bioassay method to assess relative toxicity, uptake kinetics and accumulated forms of trace metals. In: Munawar, M., G. Dixon, C.I. Mayfield, T. Reynoldson & M.H. Sadar (1989). Environmental bioassay techniques and their application. Proceedings of the 1<sup>st</sup> International Conference held in Lancaster, England, 11-14 July 1988. Kluwer Academic Publishers: 345-351.
- Sokal, R.R. & F.J. Rohlf (1981). Biometry. W.H. Freeman and Company, New York, 859pp.
- Stortelder, P.B.M., M.A. van der Gaag & L.A. van der Kooij (1989). Kansen voor waterorganismen. Een ecologische onderbouwing voor kwaliteitsdoelstellingen voor water en waterbodems. Notanr. 89.016a. Rijksinstituut voor Integraal Zoetwaterbeheer en Afvalwaterbehandeling, RIZA, Lelystad. 178p.
- Stouten, D.A., F. Noppert F. Balk & A.J. Hendriks (1993). Biologische bewaking van Rijn en Maas: Ervaring met vissen en watervlooien 1988 - 1992. Publikaties en rapporten van het project 'Ecologisch Herstel Rijn en Maas', publikatie nr. 55.
- STOWA - Stichting Toegepast Onderzoek Waterbeheer (1992a). Ontstaan en bestrijden van dekragen van kroos. 1., 92-09. STOWA.



STOWA - Stichting Toegepast Onderzoek Waterbeheer (1992b). Ontstaan en bestrijden van deklagen van kroos. 2. Modelmatige benadering van de kroosontwikkeling en beoordeling van beheersbaarheid, 92-10.

STOWA - Stichting Toegepast Onderzoek Waterbeheer (1996). Indicatieve analytische methoden en groeps- en somparameters voor de bepaling van de waterkwaliteit. Inventarisatie van bestaande technieken en correlatieanalyse van waterkwaliteitsgegevens, 96-25.

STOWA - Stichting Toegepast Onderzoek Waterbeheer (1997). Biomonitoringstechnieken voor bestrijdingsmiddelen en zware metalen in watersystemen. Deel 1: Inventarisatie en selectie van geschikte technieken., 97-08

Tarkpea, M., M. Hansson & Samuelsson (1986)(in Munkittrick *et al.*, 1991). Comparison of the Microtox test with the 96 h LC40 test for the harpacticoid *Nitocra spinipes*. *Ecotoxicology and Environmental Safety* 11: 127-143.

Thomas, J.M. & A.A. Hayward (1990). Relationships between Microtox test results, extraction methods, and physical and chemical compositions of marine sediment samples. *Toxicological Assessment* 5: 29-45.

Tonkes, M., C. van de Guchte, J. Botterweg., D. de Zwart & M. Hof (1995). Monitoring water quality in the future. Volume 4: Monitoring strategies for complex mixtures. Ministry of Housing, Spatial Planning and the Environment VROM, Den Haag: 33p.

Toussaint, M.W., T.R. Shedd, W.H. van der Schalie & G.R. Leather (1995). A comparison of standard acute toxicity tests with rapid-screening toxicity tests. *Environmental Toxicology and Chemistry*: 14: 907-915.

Universität Regensburg Institut II - Festkörperphysik (1993). DF-Algentest: Eine Online-Biomonitor zur Gewässerüberwachung. Product informatiefolder.

U.S. EPA - Environmental Protection Agency (1989). Short-Term Methods for Estimating the Chronic Toxicity of Effluents and Receiving Waters to Freshwater Organisms.-EPA-600/4-89/001, Environmental Monitoring Systems Laboratory, Cincinnati, OH.

Van de Guchte, C., H. Eijsackers, P.J. den Besten, C.A.M. van Gestel, T. Aldenberg, T.P. Traas & P.C. de Ruiter (1996). Ecotoxicologisch risicobeoordeling van (water)bodems: hoe verder? Programma Geïntegreerd Bodemonderzoek.

Van Rijn, J.P., N.M. van Straalen & J. Willems (1995). Handboek bestrijdingsmiddelen. Gebruik en milieu-effecten. VU Uitgeverij, Amsterdam: 670p.

Van Straalen, N.M. & C.A.M van Gestel (1993). Ecotoxicological test methods using terrestrial arthropods. Discussion paper for the OECD Test Guidelines Programme. VU Uitgeverij Amsterdam.

Van Straalen, N.M. & J.A.C Verkleij (red.) (1991). Leerboek Oecotoxicologie. VU Uitgeverij, Amsterdam.

Villars, M.T. (1995). Monitoring water quality in the future, Executive summary. Delft Hydraulics, Delft, The Netherlands.

Waterschap Groot Salland (in prep.). Ecotoxicologisch onderzoek in het fruitteeltgebied rond Kraggenburg (NOP). Waterschap Groot Salland, Zwolle.

Willemsen, A., M.A. Vaal & D. de Zwart (1995). Microbiotests as tools for environmental monitoring. Rapportnummer: 607042005. Rijksinstituut voor Volksgezondheid en Milieuhygiëne RIVM, Bilthoven. 39p.



Zeiseniss, K. & E. Grabert (1994). A novel method for determining chronic toxicity with the LUMISTox luminescent bacteria test. In: Campbell, A.K., L.J. Kricka & P.E. Stanley. Bioluminescence and Chemiluminescence. Fundamentals and applied aspects. Proceedings of the 8th international symposium on bioluminescence and chemiluminescence, Cambridge, September 1994. John Wiley and Sons, New York: 77-78.

Zimmer, M. (1993). Erarbeitung von Kriterien zur Ableitung van Qualitätszielen für Sedimente und Schwebstoffe. Literaturstudie. Forschungsvorhaben 102 04 384/01. Technische Universität, Hamburg. 309p.

Zuiveringschap West-Overijssel (1993). Microtox en bestrijdingsmiddelen in oppervlaktewater. Zuiveringschap West-Overijssel, Zwolle.

Zwart, D. de & R.C. Trivedi (1995). Manual on integrated water quality evaluation. RIVM report nr. 802023003. Rijksinstituut voor Volksgezondheid en Milieuhygiene, Bilthoven.

Zwart, D. de (1995). Monitoring water quality in the future. Volume 3: Biomonitoring. Ministry of Housing, Spatial Planning and the Environment VROM, Den Haag. 83p.

Zwart, D. de, H.A.M. de Kruijf & W. Slooff (1992). Biomonitoring vanuit ecotoxicologisch perspectief als strategie voor het RIVM. Rapport no.: 671010001. Rijksinstituut voor Volksgezondheid en Milieuhygiene RIVM, Bilthoven. 30p.

Zwart, D. de & W. Slooff (1983). The Microtox as an alternative assay in the acute toxicity assessment of water pollutants. *Aquatic Toxicology*, 4: 129-138.



## BIJLAGEN

### Lijst van bijlagen

- Bijlage 1 Beschrijving van de acute algentest (lab-bioassay)
- Bijlage 2 Beschrijving van de acute bacterietest (lab-bioassay)
- Bijlage 3 Beschrijving van de acute watervlooiëntest (lab-bioassay)
- Bijlage 4 Beschrijving van de acute Rotoxkit F-test (lab-bioassay)
- Bijlage 5 Beschrijving van de kroostest (veldbioassay)
- Bijlage 6 Beschrijving van de watervlooiën veldbioassay
- Bijlage 7 Beschrijving van de muggelarve veldbioassay
- Bijlage 8 Beschrijving van de DF-Algentest (biologisch bewakingssysteem)
- Bijlage 9 Beschrijving van de Dynamische Daphniatest (biologisch bewakingssysteem)
- Bijlage 10 Beschrijving van de Mosselmonitor (biologisch bewakingssysteem)
- Bijlage 11 Stoffeninformatie 1: Overzicht van de gevoeligste technieken
- Bijlage 12 Stoffeninformatie 2: Overzicht van de lab-bioassays
- Bijlage 13 Stoffeninformatie 3: Overzicht van de veldbioassays
- Bijlage 14 Stoffeninformatie 4: Overzicht van de biologische bewakingssystemen
- Bijlage 15 Beschrijving van de FluoroMetPLATE-bioassay (lab-bioassay)
- Bijlage 16 Praktijkmonitoring metalen
  - 16a Aanvullende informatie t.a.v. de bemonstering
  - 16b Chemische analyseresultaten
  - 16c Resultaten acute algentest (lab-bioassay)
  - 16d Resultaten acute bacterietest (lab-bioassay)
  - 16e Resultaten acute watervlooiëntest (lab-bioassay)
  - 16f Resultaten acute Rotoxkit F-test (lab-bioassay)
  - 16g Resultaten FluoroMetPLATE-test (lab-bioassay)
- Bijlage 17 Weergave van waarnemingen met behulp van boxplots
- Bijlage 18 Praktijkmonitoring bestrijdingsmiddelen, HH Delfland
  - 18a Resultaten watervlooiën lab- en veldbioassays
  - 18b Resultaten watervlooiën veldbioassays met potten en RIZA-biokorven
- Bijlage 19 Praktijkmonitoring bestrijdingsmiddelen, HH Fleverwaard
  - 19a Resultaten acute algen- en watervlooiën lab- en veldbioassays
  - 19b Locatie 1: chemische analyseresultaten en berekening Toxic Units
  - 19c Locatie 2: chemische analyseresultaten en berekening Toxic Units



## Bijlage 1.

### **ACUTE ALGENTEST (LAB-BIOASSAY)**

#### **A. Algemeen principe:**

De acute algentest (lab-bioassay) met groenalgen wordt uitgevoerd volgens één van de volgende richtlijnen: ISO 8692 (1989), NEN 6506 (1984), U.S. EPA (1989) of OECD 201 (1984). In deze test wordt de groeiremming van de alg beoordeeld na minimaal 72 uur blootstelling aan verschillende concentraties oppervlaktewater. De testconcentraties worden aangemaakt door het oppervlaktewater te verdunnen met een gestandaardiseerd, schoon watermedium dat tevens als blanco wordt meegetest. De mate van groei wordt bepaald middels de toename van het totaal aantal algencellen gedurende de test. Dit wordt uitgedrukt in de volgende twee eindpunten: 'oppervlakte onder de groeicurve' (A) en 'groeisnelheid' ( $\mu$ ). Uit de resultaten voor A en voor  $\mu$  wordt met behulp van een geschikte statistische methode de concentratie oppervlaktewater geschat die, in vergelijking met de blanco, 50% remming van de algengroei geeft (EC<sub>50</sub>). Voor deze test kan, afhankelijk van het protocol, gebruik worden gemaakt van de groenalg *Scenedesmus subspicatus*, *Raphidocelis subcapitata* (voorheen: *Selenastrum capricornutum*) of *Chlorella pyrenoidosa*.

#### **B. Bijzonderheden t.a.v. de uitvoering binnen dit project (toepassing in keuzesysteem):**

De acute algentest is uitgevoerd met behulp van de recent, commercieel beschikbaar gekomen Algaltoxkit F™ (Creasel, 1996b). Deze Toxkit volgt de OECD 201-richtlijn en maakt gebruik van de groenalg *Raphidocelis subcapitata*. Tijdens de uitvoering is de bij deze Toxkit bijgevoegde richtlijn (Standard Operational Procedure) gevolgd (Creasel, 1996b).

Binnen dit STOWA-project is echter voor een gemodificeerde uitvoering van deze test gekozen. Deze wijziging houdt in dat in plaats van een verdunningsreeks met drie replica's per testconcentratie, uitsluitend 6 replica's van het *onverdunde* oppervlaktewater zijn beoordeeld. Na 24, 48 en 72 uur blootstelling is in iedere replica spectrofotometrisch de optische dichtheid gemeten, die vervolgens is omgerekend naar het aantal algencellen per ml. Op basis hiervan zijn A en  $\mu$  berekend. Tenslotte is met behulp van de parametrische 'Bonferroni'-test uit het statistische software pakket SPSS (Norusis, 1992) getoetst of er ten opzichte van de blanco en/of referentie significante verschillen in de waarnemingen voor A en  $\mu$  zijn. Hiervoor is eerst getoetst of voldaan werd aan de eisen t.a.v. normaliteit en homogeniteit van varianties.

#### **C. Randvoorwaarden:**

Voor een aantal fysisch-chemische parameters staan de waarden, waarbij tijdens een acute blootstelling van *Raphidocelis subcapitata* géén beïnvloeding van het testresultaat wordt verwacht (de zogenaamde randvoorwaarden), vermeld in de volgende tabel (Botterweg, 1996, Maas et al, 1993 en Maas, 1995):

pH	O <sub>2</sub> (mg/l)	NO <sub>2</sub> <sup>-</sup> (mg/l)	NH <sub>4</sub> <sup>+</sup> (mg/l)	NH <sub>3</sub> (mg/l)	Geleidbaarheid ( $\mu$ S/cm)
8,3 ± 1	niet bekend	< 500	< 45	< 2,4	niet bekend

#### **D. Geldigheidscriteria:**

De volgende geldigheidscriteria zijn van toepassing bij het testen van verdunde en onverdunde watermonsters:



- De monsters en de blanco moeten voldoen aan de randvoorwaarden (zie C);
- Het aantal cellen in de blanco dient in 72 uur minimaal 16 keer te zijn toegenomen;
- Wanneer een kwaliteitstest is uitgevoerd, dient het testresultaat binnen de in het protocol vermelde range te liggen (zie J).

#### **E. Beoordelingscriteria:**

Nadat gecontroleerd is of de uitgevoerde test aan de geldigheidscriteria voldoet, kunnen de resultaten van de test worden beoordeeld. Hiertoe wordt met behulp van een geschikte statistische methode (bijv. de parametrische Bonferoni T-test) getoetst of de groei in een bepaald oppervlaktewatermonster statistisch significant verschilt van de groei in het blancotestmedium en/of de referentielocatie. Hiervoor wordt echter eerst getoetst of voldaan wordt aan de eisen t.a.v. normaliteit en homogeniteit van varianties. Indien hieraan ook na een eventuele transformatie van de waarnemingen niet kan worden voldaan, dan wordt voor het toetsen van verschillen gebruik gemaakt van een niet-parametrische methode (bijv. een rangsomtoets). Deze statistische analyses worden op zowel de resultaten met betrekking tot het 'oppervlakte onder de groeicurve' (A) als met betrekking tot de 'groeisnelheid' ( $\mu$ ) uitgevoerd.

Indien de groei op de te onderzoeken locatie significant lager is dan in het blancotestmedium (zie ook J. Aandachtspunten) en/of de referentielocatie, dan wordt geconcludeerd dat het betreffende monster negatieve en dus toxische effecten op de alg veroorzaakte.

#### **F. Toepassingsgebied en periode:**

De acute algentest is bruikbaar voor de beoordeling van de toxiciteit van stoffen, waterige monsters (oppervlaktewater, afvalwater) en waterbodems (via het poriewater en/of elutriaat). Als Toxkit (Algaltokit F) is de test in het algemeen goed toe te passen bij het monitoren van oppervlaktewater, bij onderzoek naar de milieubezwaarlijkheid van afvalwater, bij handhaving en controle en bij saneringsonderzoek.

Aangezien zowel het materiaal als de testorganismen het gehele jaar door verkrijgbaar zijn en aangezien deze test in het laboratorium, onder gestandaardiseerde omstandigheden wordt uitgevoerd, zijn er geen beperkingen ten aanzien van de periode waarin de test kan worden toegepast.

#### **G. Gevoeligheid:**

De acute algentest is gevoelig voor metalen (specifiek voor Cd, Cu en Zn), algiciden en herbiciden. In een studie door het LABRAP (Creasel, 1996b), waarbij de Algaltokit F werd vergeleken met de conventionele algentest, is gebleken, dat de gevoeligheid van de Algaltokit F voor stoffen en milieumonsters overeenkomt met de gevoeligheid van de conventionele acute algentest. Voor de specifieke gevoeligheid van deze test wordt verwezen naar bijlage 12.

#### **H. Ervaring bij waterbeheerders:**

Op dit ogenblik is de ervaring met de acute algentest bij de waterbeheerders nog vrij beperkt. HH Rijnland heeft echter enige ervaring doordat in het kader van een afstudeeropdracht (AquaSense, 1995) het oppervlaktewater van enkele locaties in hun beheersgebied met de volgende technieken is beoordeeld: de acute watervlooiëntest, de Rotokit F, de Thamnotokit F, de ECHA Biocide Monitor, de Toxi-Chromotest en de watervlooiën veldbioassay. In latere instantie zijn (ingevroren) watermonsters van deze locaties aanvullend door de Universiteit van Gent beoordeeld met behulp van de Algaltokit F (nog niet gepubliceerd). Op één locatie kon een negatief effect met zowel de



acute watervlooiëntest als met de watervlooiën veldbioassay worden aangetoond. Op twee andere locaties kon met de Algaltoxkit F een effect worden aangetoond.

## I. Beschikbaarheid en kosten:

Deze test kan worden uitgevoerd met zelf gekweekte algen. Deze test is als Algaltoxkit ook commercieel beschikbaar via AquaSense BV in Amsterdam. Deze toxkit bevat een gedetailleerde richtlijn (SOP), verbruiksmateriaal en algen. Met één toxkit kunnen 2 complete verdunningsreeksen (1 blanco en 5 concentraties) met ieder 3 replica's per concentratie worden getest ter bepaling van de EC<sub>50</sub>. Indien alleen onverdunde watermonsters, met een dubbel aantal replica's worden getest, dan kunnen met één toxkit 1 blanco en 5 monsters worden getest.

In het volgende schema worden de kosten (uitvoeringstijd en verbruiksmateriaal) geraamd voor het testen van 2 complete verdunningsreeksen en/of het screenen van 5 onverdunde monsters en 1 blanco met 6 replica's per monster. Hierbij is uitgegaan van het gebruik van de Algaltoxkit.

Kosten					
Verbruiksmateriaal			Uitvoeringstijd*		
Laag (< f 500)	Middel (f 500 - f 1000)	Hoog (> f 1000)	Kort (< 1 dag)	Middel (1 - 3 dagen)	Lang (> 3 dagen)
	X			X	

\*: Inclusief voorbereiding, uitvoering, dataverwerking en rapportage

Naast verbruiksmateriaal is voor de uitvoering van de Algaltoxkit ook een kweekruimte (continue belichting en constante temperatuur) en een spectrofotometer (geschikt voor 10 cm cuvetten) nodig. Een simpele kweekruimte ('Algaltoxkit incubator') kan via AquaSense worden verkregen voor circa. f 1.250,- en de spectrofotometer ('long cell colorimeter') voor circa. f 3.000,-.

## J. Aandachtspunten:

- Onder invloed van toxische stoffen kunnen deformaties van algencellen voorkomen. Dit kan bij elke test microscopisch worden nagegaan;
- Het verdient aanbeveling om regelmatig zowel ter controle van de gevoeligheid van de in de test gebruikte algensoort, als ter controle van de testprocedure, een test met kaliumdichromaat (K<sub>2</sub>Cr<sub>2</sub>O<sub>7</sub>) als referentiestof uit te voeren. De ISO 8692 norm (1989) specificeert een range met betrekking tot de EC<sub>50, 72uur</sub>-waarden voor *Scenedesmus subspicatus* en/of *Raphidocelis subcapitata* van 0,60 - 1,03 voor 'μ' dan wel van 0,20 - 0,75 mg K<sub>2</sub>Cr<sub>2</sub>O<sub>7</sub>/l voor 'A'. De NEN 6506 norm (1984) geeft voor de groeisnelheid van *Scenedesmus* daarentegen een acceptatierange van 1,02 ± 0,18 mg K<sub>2</sub>Cr<sub>2</sub>O<sub>7</sub>/l en noemt voor *Chlorella pyrenoidosa* een acceptatierange van 0,70 ± 0,07 mg K<sub>2</sub>Cr<sub>2</sub>O<sub>7</sub>/l.
- Het conventionele blancotestmedium bevat veel minder nutriënten dan oppervlaktewater, waardoor de algengroei zelfs in verontreinigd oppervlaktewater vaak hoger is (zie praktijktoetsing). Daarom dient de mogelijkheid voor het samenstellen van een gestandaardiseerd medium met een hogere nutriëntensamenstelling te worden onderzocht.



**K. Referenties:**

(zie de literatuurlijst voor de volledige referenties)

Ahlf, 1985; Ahlf *et al.*, 1989; Ahlf *et al.*, 1991; AquaSense, 1995; Becker van Slooten *et al.*, 1996; Botterweg, 1996; Creasel, 1996b; ISO 8692, 1989; Maas *et al.*, 1993; Maas, 1995; Maas-Diepeveen & van de Guchte, 1990; NEN 6506, 1984; Norusis, 1992; OECD 201, 1984; Toussaint *et al.*, 1995; U.S. EPA - Environmental Protection Agency, 1989; Zimmer, 1993.



## Bijlage 2.

### **ACUTE BACTERIETEST (LAB-BIOASSAY)**

#### **A. Algemeen principe:**

De (lab)bioassay met de bacterie *Vibrio fischeri* (voorheen *Photobacterium phosphoreum*) wordt uitgevoerd volgens de NVN 6516 (1993) richtlijn. Een deel van de uit de stofwisseling vrijkomende energie wordt door deze bacterie als licht afgegeven (bioluminescentie). Het principe van deze test is dat toxische stoffen deze bioluminescentie remmen. Met een lichtmeter (Microtox of Lumistox) wordt de afname van de bioluminescentie bij de bacterie beoordeeld na 5, 15 en 30 minuten blootstelling aan verschillende concentraties van het te testen oppervlaktewater. De analyses worden in duplo uitgevoerd, waarna per blootstellingsduur één gemiddelde EC<sub>20</sub>-waarde wordt bepaald. De EC<sub>20</sub>-waarde (Effect Concentratie) is gedefinieerd als de concentratie oppervlaktewater, waarbij na een gegeven blootstellingsduur een afname van 20% van de bioluminescentie ten opzichte van de blanco (= verdunningsmedium) kan worden waargenomen. De laagste van de op de drie tijdstippen bepaalde EC<sub>20</sub>-waarden, wordt gebruikt om de toxiciteit van het oppervlaktewater aan te geven.

#### **B. Bijzonderheden t.a.v. de uitvoering binnen dit project (toepassing in keuzesysteem):**

Binnen dit STOWA-project is deze test uitgevoerd volgens een gemodificeerde versie van het protocol voor de '100%' -test uit het Microtox-handboek (Microbics, 1992). Hierbij zijn in plaats van een verdunningsreeks met twee replica's per testconcentratie uitsluitend 5 replica's van het *onverdunde* oppervlaktewater beoordeeld. Na 30 minuten blootstelling is in iedere replica met behulp van de Microtox-lichtmeter de bioluminescentie (I) gemeten. Per monster zijn gelijktijdig ook 5 blanco's getest en gemeten. Op basis van deze waarnemingen zijn per replica de 'gamma' (Γ)-waarden berekend met behulp van de volgende, enigszins gemodificeerde formule uit NVN 6516 (1993):

$$\Gamma = (\text{gemiddelde } I_{\text{blanco}, t} - I_{\text{monster}, t}) / I_{\text{monster}, t}$$

waarin:

gemiddelde  $I_{\text{blanco}, t}$  gemiddelde bioluminescentie in de blanco na een gegeven blootstellingsduur (t).<sup>1</sup>

$I_{\text{monster}, t}$  bioluminescentie in de toetssuspensie na een gegeven blootstellingsduur (t)

Tenslotte is met behulp van de parametrische 'Bonferroni'-test uit het statistische software pakket SPSS (Norusis, 1992) getoetst of er ten opzichte van de referentielocatie significante verschillen in de waarnemingen voor Γ zijn. Hiervoor is eerst getoetst of voldaan werd aan de eisen t.a.v. normaliteit en homogeniteit van varianties.

#### **C. Randvoorwaarden:**

Voor een aantal fysisch-chemische parameters staan de waarden, waarbij géén beïnvloeding van het testresultaat wordt verwacht (de zogenaamde randvoorwaarden), vermeld in de volgende tabel.

<sup>1</sup> Dit deel van de formule wijkt af van de originele formule in NVN 6516, waar deze waarde wordt gecorrigeerd voor de blanco bioluminescentie-afname ( $R_t$ ). Vanwege de experimentele opzet van de '100%' -test is het echter niet mogelijk om deze  $R_t$  te berekenen.

pH	O <sub>2</sub> (mg/l)	NO <sub>2</sub> (mg/l)	NH <sub>4</sub> <sup>+</sup> (mg/l)	NH <sub>3</sub> (mg/l)	Na <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> (mg/l)	Cl <sup>-</sup> (g/l)	Saliniteit (‰)
5 - 9	> 3	< 50	niet kritisch	niet kritisch	< 2500*	n.v.t.	n.v.t.
*	*	*	*	*	**	*	*

\*: Overgenomen uit Botterweg, (red.) 1996 en gebaseerd op Maas *et al.*, 1993 en Maas, 1995;

\*\* : De randvoorwaarde voor deze chemische parameter is gebaseerd op de door Becker van Slooten *et al.* (1996) vastgestelde EC<sub>10, 15 min</sub>-waarde voor de bacterie *Vibrio fischeri*

n.v.t.: het zoutgehalte van het monster is niet kritisch, aangezien dit voor elk monster artificieel wordt verhoogd voordat de mariene bacterie *V. fischeri* wordt toegevoegd.

#### D. Geldigheidscriteria:

De volgende geldigheidscriteria zijn van toepassing bij het testen van onverdunde en verdunde watermonsters:

- De blanco en de monsters moeten voldoen aan de randvoorwaarden (zie C);
- Wanneer een kwaliteitstest is uitgevoerd, dient het testresultaat binnen de in het protocol vermelde range te liggen (zie J).

Verder zijn de volgende additionele criteria van toepassing indien er voor wordt gekozen om een verdunningsreeks (ter bepaling van de EC<sub>20</sub>) te testen i.p.v. uitsluitend één concentratie:

- De blanco afname (R<sub>i</sub>) dient tussen de 0,6 en 1,3 liggen;
- De laagste van de drie gemiddelde EC<sub>20</sub>-waarden moet kunnen worden geïnterpoleerd;
- De EC<sub>20</sub>-waarden van de duplotoetsen mogen niet meer dan 15% van elkaar afwijken.

#### E. Beoordelingscriteria:

Nadat gecontroleerd is of de uitgevoerde test aan de geldigheidscriteria voldoet, kunnen de resultaten van de test worden beoordeeld. Hiertoe wordt met behulp van een geschikte statistische methode (bijv. de parametrische Bonferroni' T-test) getoetst of de bioluminescentie in een bepaald oppervlaktewatermonster statistisch significant van de bioluminescentie in de referentielocatie verschilt. Hiervoor wordt echter eerst getoetst of voldaan wordt aan de eisen t.a.v. normaliteit en homogeniteit van varianties. Indien hieraan ook na een eventuele transformatie van de waarnemingen niet kan worden voldaan, dan wordt voor het toetsen van verschillen gebruik gemaakt van een niet-parametrische methode (bijv. een rangsomtoets).

Indien de bioluminescentie op de te onderzoeken locatie significant lager is dan bij de referentielocatie, wordt geconcludeerd dat het betreffende monster negatieve en dus toxische effecten op de bacterie veroorzaakte.

#### F. Toepassingsgebied en periode:

De acute bacterietest wordt toegepast bij de screening en beoordeling van de toxiciteit van stoffen, waterbodems (via het poriewater en/of elutriat) en waterige monsters (oppervlaktewater en afvalwater, in het bijzonder van de petroleumindustrie (Thomas *et al.*, 1986; in: Munkittrick *et al.*, 1991).

Aangezien zowel het materiaal als de testorganismen het gehele jaar door verkrijgbaar zijn en aangezien deze test in het laboratorium, onder gestandaardiseerde omstandigheden wordt uitgevoerd, zijn er geen beperkingen ten aanzien van de periode waarin de test kan worden toegepast.



## G. Gevoeligheid:

De test is gevoelig voor bactericiden, DDT en PCP, en metalen (met name Hg en Cu) (zie Munkittrick *et al.*, 1991; Willemsen *et al.*, 1995). Volgens Tarkpea *et al.* (1986; in Munkittrick *et al.*, 1991) vertoont de test een grotere gevoeligheid voor effluënten dan voor pure componenten. Bovendien blijkt *V. fischeri* gevoeliger te zijn voor commerciële formuleringen van herbiciden en pesticiden dan voor de chemisch zuivere formuleringen (Thomas *et al.*, 1986; in Munkittrick *et al.*, 1991). Voor de specifieke gevoeligheid van deze test wordt verwezen naar bijlage 12.

## H. Ervaring bij waterbeheerders:

De acute bacterietest is reeds toegepast door de provincie Utrecht, WS De Drie Ambachten, HH Rijnland en ZS West-Overijssel. Doordat géén negatieve effecten konden worden aangetoond (bioassay te ongevoelig) of omdat de relatie tussen waargenomen effect (remming van de bioluminescentie) en de aanwezige verontreinigingen niet duidelijk was, wordt deze bioassay door twee beheerders als onbruikbaar en door één beheerder slechts als redelijk toepasbaar beoordeeld. Als bijkomstig nadeel van deze bioassay wordt genoemd dat een niet representatief organisme (zoutwaterbacterie *Vibrio fischeri*, voorheen *Photobacterium phosphoreum*) wordt gebruikt, waardoor het doorvertalen van de (laboratorium) testresultaten naar de veldsituatie lastiger is. De Acute bacterietest is volgens één van de waterkwaliteitsbeheerders echter wel bruikbaar als snelle screeningstest (testduur is 30 minuten), indien sprake is van een (zeer) ernstige verontreiniging, bijvoorbeeld in het geval van (illegale) lozingen.

Door het toepassen van een concentreringsmethode is door ZS West-Overijssel onderzocht of de concentratie bestrijdingsmiddelen kan worden verhoogd tot een met de Acute bacterietest meetbaar niveau (Zuiveringschap West-Overijssel, 1993). Hierbij is geprobeerd om de bestrijdingsmiddelen te concentreren met behulp van XAD-harsen. Deze werkwijze bleek echter nog te bewerkelijk, te weinig onderbouwd, te duur en te veel onzekerheden te bevatten, waardoor deze voorlopig nog niet geschikt is voor routinematige toepasbaarheid.

Het beoordelen van met XAD-hars geconcentreerd oppervlaktewater met behulp van de acute bacterietest is echter een vast onderdeel van het Biologisch Monitoring Programma van het RIZA, dat samen met het RIVM wordt uitgevoerd. Maandelijks wordt in dit kader de toxiciteit van de Rijn bij Lobith (sinds 1988) en de Maas bij Eijsden (sinds 1991) bepaald. Naast het feit, dat er in dit monitoringsprogramma wel degelijk toxiciteit kan worden aangetoond met de acute bacterietest, is opvallend dat na 1990 een duidelijke afname in deze toxiciteit valt waar te nemen (zie Noordhuis (red.), 1995). Door het RIZA/KIWA werd eerder aangetoond dat de gemeten toxiciteit niet verklaard kan worden op basis van de via een uitgebreide GC/MS analyse aangetoonde stoffen. Het 'ontbrekende' deel van de toxiciteit wordt waarschijnlijk veroorzaakt door onbekende verbindingen (zie Hendriks (ed.), 1994). De acute bacterietest is ook door anderen gebruikt voor het monitoren van XAD-geconcentreerd Maas- (AquaSense, 1994) en Rijn-oppervlaktewater (Noij & Meerkerk (red.), 1995). De concentraten van alle onderzochte locaties in de Maas bleken toxisch te zijn voor *Vibrio fischeri*. Ook in de Rijn konden negatieve effecten worden gemeten met deze techniek.

## I. Beschikbaarheid en kosten

Dit testsysteem en de verbruiksmaterialen zijn verkrijgbaar via Petromation BV (Microtox) of Dr. Lange Benelux (Lumistox).

In het volgende schema worden de kosten (uitvoeringstijd en verbruiksmateriaal) geraamd voor het testen van 5 complete verdunningsreeksen (2 replica's per concentratie) en/of het screenen van 5 onverdunde monsters met 5 replica's per monster, waarbij per monster gelijktijdig 5 blancoreplica's worden meegetest.



Kosten					
Verbruiksmateriaal			Uitvoeringstijd*		
Laag (< f 500)	Middel (f 500 - f 1000)	Hoog (> f 1000)	Kort (< 1 dag)	Middel (1 - 3 dagen)	Lang (> 3 dagen)
X			X		

\*: Inclusief voorbereiding, uitvoering, dataverwerking en rapportage

Naast verbruiksmateriaal is voor de uitvoering van de acute bacterietest ook een gecombineerde lichtmeter en kweekruimte (constante temperatuur) nodig. Dit systeem (Microtox of Lumistox), inclusief bijbehorende software en 'starter pack' kost circa f 35.000,-. Voor een exacte prijsopgave kan contact op worden genomen met Petromation BV (Microtox) of Dr. Lange Benelux (Lumistox).

## J. Aandachtspunten:

Er zijn een aantal factoren, die de meting van de acute bacterietest kunnen beïnvloeden:

- Slecht oplosbare stoffen, vluchtige stoffen, stoffen die met verdunningswater of toetsuspensie reageren en/of stoffen die tijdens de toets veranderen, kunnen de betrouwbaarheid van de testresultaten en de reproduceerbaarheid van de toets beïnvloeden (Dr. Lange, 1994). Het verdient aanbeveling te onderzoeken of het eventueel gebruikte extractie- of elutiemiddel één of meerdere van deze eigenschappen bezit en of het middel tot een aanvaardbaar niveau kan worden verwijderd;
- Bij verwijdering van het eventueel gebruikte extractie- of elutiemiddel kan de gemeten toxiciteit worden beïnvloed door verdamping, adsorptie aan glaswerk of door overschrijding van de oplosbaarheid van de geëxtraheerde stoffen (NVN 6516, 1993);
- Als mariene bacterie is *Vibrio fischeri* halofiel. Voorafgaand aan de toets wordt daarom het monster en de eventuele verdunningsreeks op de juiste osmotische waarde gebracht. Ionen van sommige zware metalen kunnen met Cl-ionen echter complexen vormen, waardoor de toxiciteit van de aanwezige metalen sterk kan wijzigen. Indien juist de toxiciteit van zware metalen van doorslaggevend betekenis wordt geacht, kan de juiste osmotische druk van het te toetsen oppervlaktewater monster ook worden verkregen door in plaats van natriumchloride, sucrose toe te voegen. Dit geeft dezelfde druk als 20 g/l NaCl. Bij toepassing van Lumistox-bacteriën wordt de reconstitutie uitgevoerd met de sucrose-oplossing in plaats van de door de fabrikant bijgeleverde reacteringsvloeistof (NVN 6516, 1993). Als de toets wordt uitgevoerd met sucrose als middel ter verhoging van de osmotische druk, bestaat de blanco uit de sucrose-oplossing (NVN 6516, 1993);
- Alvorens te toetsen, wordt de pH op een waarde tussen 5 en 9 gebracht. Er wordt aanbevolen, om bij extreme pH-waarden het monster ook zonder pH-bijstelling te toetsen (NVN 6516, 1993).
- Gezien de verschillen in bereiding van voorraad- en toetsuspensie met de twee verschillende commercieel verkrijgbare bacterie-preparaten, is het mogelijk dat verschillen optreden in stofspecifieke gevoeligheid. Afwijkende testresultaten kunnen worden veroorzaakt door een verschil van het in de toets aanwezige aandeel en karakter van mogelijk maskerende<sup>2</sup> verbindingen, afkomstig uit de reacteringsvloeistof of het medium waarin de bacteriën oorspronkelijk door de fabrikant zijn gekweekt (NVN 6516, 1993);

<sup>2</sup> Maskerende verbindingen zijn stoffen die doordat ze zelf een effect op de fluorescentie van de bacteriën hebben, een eventueel effect op de fluorescentie als gevolg van het geteste monster overstemmen.



- Ter controle van de gevoeligheid van *Vibrio fischeri* kan een test uitgevoerd worden met fenol en/of zink (als bivalent ion) als referentiestof. De  $EC_{20, 5 \text{ min}}$  voor fenol dient tussen 3 en 10 mg/l te liggen en de  $EC_{20, 30 \text{ min}}$  voor zink tussen de 0,2 en 2 mg/l (NVN 6516, 1993). Het toetsen van fenol en/of zink als standaardstof dient tevens als controle van de gehele testprocedure. Gebruik geen standaardoplossing die is geconserveerd door toevoeging van chemicaliën. Bij iedere charge bacteriën verdient het aanbeveling voor gebruik deze controle uit te voeren. Eventueel door de leverancier opgegeven kwaliteitscriteria voor andere standaardstoffen kunnen eveneens worden geverifieerd (NVN, 1993).

## K. Referenties:

(zie de literatuurlijst voor de volledige referenties)

AquaSense, 1994; Becker van Slooten *et al.*, 1996; Botterweg, 1996; Bund/Länder-Projektgruppe "Wirkungstests Rhein" (WIR), 1995; DIN 38 412, 1991; Dr.Lange, 1994, 1995; Gaggi *et al.*, 1995; Guzzella & Galassi, 1993; Hendriks, 1994; Kaiser & Devillers, 1994; Kramer & Botterweg, 1991; Maas *et al.*, 1993; Maas, 1995; Michaelidou *et al.*, 1994; Microbics, 1992; Munawar *et al.*, 1989; Noordhuis, 1995; Noij & Meerkerk, 1995; Norusis, 1992; NVN 6516, 1993; Schiewe *et al.*, 1985; Tarkpea *et al.*, 1986; Thomas *et al.*, 1986; in: Munkittrick *et al.*, 1991; Thomas & Hayward, 1990; Willemsen *et al.*, 1995; Zeiseniss & Grabert, 1994; Zimmer, 1993; Zuiveringschap West-Overijssel, 1993; Zwart & Slooff, 1983

### Bijlage 3.

## ACUTE WATERVLOOIENTEST (LAB-BIOASSAY)

### A. Algemeen principe:

De acute watervlooiëntest (lab-bioassay) wordt volgens de ISO 6341 (1989), NEN 6501 (1980), OECD 202 (1984) of OECD 202 part II (1993) richtlijn uitgevoerd met de watervlo *Daphnia magna*. Juveniele watervlooiën (< 24 uur oud) worden blootgesteld aan verschillende concentraties oppervlaktewater. Deze testconcentraties worden aangemaakt door verdunning van het oppervlaktewater met een gestandaardiseerd zoetwatermedium. Dit niet gecontamineerde zoetwatermedium dient tevens als blancotestmedium. Na 24 en/of 48 uur blootstelling wordt per testconcentratie het aantal dode en immobiele dieren gescoord (immobiel = niet meer zwemmend, maar wel nog bewegende antennen). Uit deze testresultaten wordt met behulp van een geschikte statistische methode de (effect)concentratie geschat die 50% immobilisatie (= immobiel + dood) geeft (EC<sub>50</sub>).

### B. Bijzonderheden t.a.v. de uitvoering binnen dit project (toepassing in keuzesysteem):

Binnen dit STOWA-project is deze test uitgevoerd volgens een gemodificeerde versie van de ISO 6341-richtlijn (1989). Hierbij zijn in plaats van een verdunningsreeks met 4 replica's per testconcentratie uitsluitend 8 replica's van het *onverdunde* oppervlaktewater beoordeeld. De testen zijn uitgevoerd met behulp van de Daphtoxkit F (Creasel, 1996a) en/of met watervlooiën uit een laboratoriumkweek. Bij de Daphtoxkittesten wordt vier dagen voor inzetten van de bioassays begonnen met de 'hatching' van de wintereieren. Na 24 en 48 uur blootstelling aan het onverdunde oppervlaktewater is in iedere replica het aantal immobiele watervlooiën geteld. Tenslotte is met behulp van de niet-parametrische 'Wilcoxon'-rangsomtest uit het statistische software pakket SPSS (Norusis, 1992) getoetst of er ten opzichte van het blancotestmedium en/of de referentielocatie significante verschillen in het aantal immobiele watervlooiën zijn.

### C. Randvoorwaarden:

Voor een aantal fysisch-chemische parameters staan de waarden, waarbij tijdens een acute blootstelling van *D. magna* géén beïnvloeding van het testresultaat wordt verwacht (de zogenaamde randvoorwaarden), vermeld in de volgende tabel:

pH	O <sub>2</sub> (mg/l)	hardheid (mg CaCO <sub>3</sub> /l)	NO <sub>2</sub> <sup>-</sup> (mg/l)	NH <sub>4</sub> <sup>+</sup> (mg/l)	NH <sub>3</sub> (mg/l)	Na <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> (mg/l)	Cl <sup>-</sup> (g/l)	Saliniteit (‰)	Geleidbaarheid (µS/mm)
5,5 - 9	> 3	< 1500	< 48	< 100	3,8	< 5000	< 3	< 5	750
●	*	**	*	●	●	***	*	*	**

\*: Overgenomen uit Botterweg, 1996 en gebaseerd op Maas et al (1993) en Maas (1995);

\*\* : Overgenomen uit Maas et al. (1993);

\*\*\*: De randvoorwaarde voor deze chemische parameter is gebaseerd op de door Becker van Slooten et al. (1996) vastgestelde EC<sub>10, 24 uur</sub>-waarde voor de watervlo *Daphnia magna*.

### D. Geldigheidscriteria:

De volgende geldigheidscriteria zijn van toepassing bij het testen van onverdunde en verdunde watermonsters:

- De monsters en de blanco moeten voldoen aan de randvoorwaarden (zie C);



- Het percentage immobiele watervlooiën in de blanco mag maximaal 10% bedragen;
- Wanneer een kwaliteitstest is uitgevoerd, dient het testresultaat binnen de in het protocol vermelde range te liggen (zie J).

#### **E. Beoordelingscriteria:**

Nadat gecontroleerd is of de uitgevoerde test aan de geldigheidscriteria voldoet, kunnen de resultaten van de test worden beoordeeld. Hiertoe wordt met behulp van een geschikte statistische methode getoetst (bijv. met de niet-parametrische 'Wilcoxon'-rangsomtest) of het percentage immobiele watervlooiën in een bepaald oppervlaktewatermonster statistisch significant van het blancotestmedium en/of de referentielocatie verschilt.

Indien het percentage immobiele watervlooiën op de te onderzoeken locatie significant hoger is dan in het blancotestmedium en/of de referentielocatie, wordt geconcludeerd dat het betreffende monster negatieve en dus toxische effecten op de watervlo veroorzaakte.

#### **F. Toepassingsgebied en periode:**

De acute watervlooiëntest is bruikbaar voor de beoordeling van de toxiciteit van stoffen, waterige monsters (oppervlakte- en afvalwater) en waterbodems (via het poriewater en/of elutriaat) (zie H). Als Toxkit (Daphtoxkit) is de test goed toe te passen bij het monitoren van oppervlaktewater, bij onderzoek naar de milieubezwaarlijkheid van afvalwater, bij handhaving en controle en bij saneringsonderzoek.

Aangezien zowel het materiaal als de testorganismen het gehele jaar door verkrijgbaar zijn en aangezien deze test in het laboratorium, onder gestandaardiseerde omstandigheden wordt uitgevoerd, zijn er geen beperkingen ten aanzien van de periode waarin de test kan worden toegepast.

#### **G. Gevoeligheid:**

De test is zeer gevoelig voor metalen (vooral Hg, Cu, Cd) en bestrijdingsmiddelen (diverse organofosforbestrijdingsmiddelen, DDT, Endrin, DDD, Hexachloorbenzeen, Aldicarb, Methiocarb en Deltamethrin). Voor de specifieke gevoeligheid van deze test wordt verwezen naar bijlage 12.

#### **H. Ervaring bij waterbeheerders:**

Op dit ogenblik bestaat er reeds bij verschillende waterbeheerders (enige) ervaring met de acute watervlooiëntest. In het kader van een afstudeeropdracht (AquaSense, 1995) is het oppervlaktewater van enkele locaties in het beheersgebied van HH Rijnland bijvoorbeeld beoordeeld met behulp van de volgende technieken: de acute watervlooiëntest, de Rotoxkit F, de Thamnotoxkit F, de ECHA Biocide Monitor, de Toxi-Chromotest en de watervlooiën veldbioassay. In latere instantie zijn (ingevroren) watermonsters van deze locaties aanvullend door de Universiteit van Gent beoordeeld met behulp van de Algaltoxkit F (nog niet gepubliceerd). Op één locatie kon een effect met zowel de acute watervlooiëntest als met de watervlooiën veldbioassay worden aangetoond. Op twee andere locaties kon met de Algaltoxkit F een effect worden aangetoond.

Daarnaast is de acute watervlooiëntest reeds toegepast door HH Delfland (Runia *et al.*, 1996) ZS West-Overijssel. De ervaring met deze laboratoriumbioassay is (zeer) positief, aangezien relaties tussen de mate van verontreiniging (hoge concentraties van met name organofosforbestrijdingsmiddelen) en de waargenomen negatieve effecten (sterfte) aannemelijk konden worden gemaakt.



Ook door het RIZA wordt de acute watervlooiëntest zeer waardevol geacht. Hierbij valt bijvoorbeeld te denken aan een rol bij het beoordelen en monitoren van afvalwater of concentraten van oppervlaktewater (mededeling heer J. Hendriks, RIZA). Tenslotte wordt ook bij een aantal bedrijven het afvalwater reeds regelmatig met deze test beoordeeld.

### I. Beschikbaarheid en kosten:

Deze test kan worden uitgevoerd met zelf gekweekte watervlooien. Deze test is als Daphtoxkit F (magna of pulex) ook commercieel beschikbaar via AquaSense BV in Amsterdam. Deze toxkit bevat een gedetailleerde richtlijn (SOP), verbruiksmateriaal en watervlooien. Met één toxkit kunnen 6 complete verdunningsreeksen (1 blanco en 5 concentraties) met ieder 4 replica's per concentratie worden getest ter bepaling van de EC<sub>50</sub>. Indien alleen onverdunde watermonsters, met een dubbel aantal replica's worden getest, dan kunnen met één toxkit 3 blanco's en 15 monsters worden getest (per 5 monsters telkens 1 blanco meegenomen).

In het volgende schema worden de kosten (uitvoeringstijd en verbruiksmateriaal) geraamd voor het testen van 2 complete verdunningsreeksen en/of het screenen van 5 onverdunde monsters en 1 blanco met een 8 replica's per monster. Hierbij is uitgegaan van het gebruik van de Daphtoxkit.

Kosten					
Verbruiksmateriaal			Uitvoeringstijd*		
Laag (< f 500)	Middel (f 500 - f 1000)	Hoog (> f 1000)	Kort (< 1 dag)	Middel (1 - 3 dagen)	Lang (> 3 dagen)
X			X		

\*: Inclusief voorbereiding, uitvoering, dataverwerking en rapportage

Naast verbruiksmateriaal is voor de uitvoering van de Daphtoxkit ook een kweekruimte (belichting en constante temperatuur) nodig en een speciale lichttafel voor het beoordelen van de testresultaten wordt aanbevolen. Een simpele kweekruimte ('Toxkit incubator') kan via AquaSense worden verkregen voor circa. f 500,- en de lichttafel voor circa. f 250,-.

### J. Aandachtspunten:

- Ter controle van de gevoeligheid van *Daphnia magna* en tevens ter controle van de testprocedure wordt een test uitgevoerd met kaliumdichromaat (K<sub>2</sub>Cr<sub>2</sub>O<sub>7</sub>). De waarde voor de EC<sub>50,24hr</sub> van kaliumdichromaat dient binnen de range van 0,9 mg/l tot 2,4 mg/l te liggen (ISO 6341, 1989);
- De tolerantie van *Daphnia magna* voor de combinatie van Na<sup>+</sup>, K<sup>+</sup>, Ca<sup>2+</sup>, Mg<sup>2+</sup>, Cl<sup>-</sup>, SO<sub>4</sub><sup>2-</sup> en HCO<sub>3</sub><sup>-</sup> is niet bekend. Indien de gehalten in het monster veel hoger zijn dan in het gestandaardiseerde medium, dat als verdunningsmedium en blanco wordt gebruikt, kan *Daphnia magna* niet als proefdier worden gebruikt (NEN 6501, 1980).

### K. Referenties:

AquaSense, 1995; Baier *et al.*, 1985; Becker van Slooten *et al.*, 1996; Botterweg, 1996; Burton, 1992; Burton *et al.*, 1990; Calleja *et al.*, 1994; Creasel, 1996a; Dave, 1992; Dutka *et al.*, 1991; Giesy & Hoke, 1990; Great Lakes Water Quality Board, 1988; ISO 6341, 1989; Janssen & Persoone, 1993; Léon, 1993; Luttkik *et al.*, 1991; Maas, 1995; Maas *et al.*, 1993, 1994; Maas-Diepeveen & van de Guchte, 1990; Miller *et al.*, 1985; Mulder, 1993; Munawar *et al.*, 1989; Nebeker *et al.*, 1984; NEN 6501, 1980; Norusis, 1992; OECD 202, 1984; OECD 202 part II, 1993; Persoone *et al.*, 1993, 1994; Plassche *et al.*, 1990; Runia *et al.*, 1996; Schuytema *et al.*, 1984; Slooff *et al.*, 1991; Stortelder *et al.*, 1989; Toussaint *et al.*, 1995; Zimmer, 1993.



#### Bijlage 4.

### **ACUTE ROTOXKIT F-TEST (LAB-BIOASSAY)**

#### **A. Algemeen principe:**

De Rotoxkit F-test (lab-bioassay) wordt uitgevoerd met het raderdierje *Brachionus calyciflorus* volgens het bij deze testkit bijgeleverde protocol (Creasel, 1990) of volgens ASTM E 140 (ASTM, 1991). Hierbij wordt de sterfte van juveniele raderdieren beoordeeld na 24 uur blootstelling aan oppervlaktewater. Voor de test wordt een verdunningsreeks van het oppervlaktewater gemaakt middels het in de testkit bijgeleverde standaard zoetwatermedium. Als blanco wordt 100% zoetwatermedium getest. Na 24 uur wordt het aantal dode dieren per testconcentratie gescoord. Uit deze testresultaten wordt met behulp van een geschikte statistische methode de (effect)concentratie geschat die 50% sterfte geeft (LC<sub>50</sub>).

#### **B. Bijzonderheden t.a.v. de uitvoering binnen dit project (toepassing in keuzesysteem):**

Binnen het STOWA-project is deze test uitgevoerd volgens een gemodificeerde versie van de bij deze Toxkit bijgevoegde richtlijn (Standard Operational Procedure; Creasel, 1990). Hierbij zijn in plaats van een verdunningsreeks met 6 replica's per testconcentratie uitsluitend 12 replica's van het *onverdunde* oppervlaktewater beoordeeld. Na 24 uur blootstelling is in iedere replica het aantal dode rotiferen geteld. Tenslotte is met behulp van de niet parametrische 'Wilcoxon'-rangsomtest uit het statistische software pakket SPSS (Norusis, 1992) getoetst of er ten opzichte van het blancotestmedium en/of de referentielocatie significante verschillen in het aantal dode rotiferen zijn.

#### **C. Randvoorwaarden:**

Voor een aantal fysisch-chemische parameters staan de waarden, waarbij tijdens een acute blootstelling van *Brachionus calyciflorus* géén beïnvloeding van het testresultaat wordt verwacht (de zogenaamde randvoorwaarden), vermeld in de volgende tabel (Botterweg, 1996; Maas et al, 1993 en Maas, 1995):

pH	O <sub>2</sub> (mg/l)	NO <sub>2</sub> <sup>-</sup> (mg/l)	NH <sub>4</sub> <sup>+</sup> (mg/l)	NH <sub>3</sub> (mg/l)	Cl <sup>-</sup> (g/l)	Geleidbaarheid (μS/mm)	Saliniteit (‰)
5 - 9	> 3	< 52	< 46	< 2,5	< 1,7	< 385	< 3

#### **D. Geldigheidscriteria:**

De volgende geldigheidscriteria zijn van toepassing bij het testen van onverdunde en verdunde watermonsters:

- Het monster en de verdunningen moeten voldoen aan de randvoorwaarden (zie C);
- Het sterftepercentage in de blanco mag maximaal 10% bedragen;
- Wanneer een kwaliteitstest is uitgevoerd, dient het testresultaat binnen de in het protocol vermelde range te liggen (zie J).

#### **E. Beoordelingscriteria:**

Nadat gecontroleerd is of de uitgevoerde test aan de geldigheidscriteria voldoet, kunnen de resultaten van de test beoordeeld worden. Hiertoe wordt met behulp van een geschikte statistische methode (bijv. de niet parametrische 'Wilcoxon'-rangsomtest) getoetst of het percentage dode raderdiertjes in een bepaald oppervlaktewatermonster statistisch significant van het blancotestmedium en/of de referentielocatie verschilt.

Indien het percentage dode raderdiertjes op de te onderzoeken locatie significant hoger is dan in het blancotestmedium en/of de referentielocatie, wordt geconcludeerd dat het betreffende monster negatieve en dus toxische effecten op het raderdiertje veroorzaakte.

#### **F. Toepassingsgebied en periode:**

De acute Rotoxkit F-test is bruikbaar voor de beoordeling van de toxiciteit van stoffen, waterige monsters (afvalwater en oppervlaktewater al dan niet XAD-geconcentreerd (AquaSense, 1994; Noij & Meerkerk, 1995) en waterbodems (via het poriewater en/of elutriaat). De test is niet geschikt voor het testen van stoffen, die een hoog zuurstofverbruik hebben, zeer vluchtig of zeer reactief zijn, of absorberen aan de testcupjes. Als Toxkit in het algemeen is de test goed toe te passen bij het monitoren van oppervlaktewater, bij onderzoek naar de milieubezwaarlijkheid van afvalwater, bij handhaving en controle en bij saneringsonderzoek.

Aangezien zowel het materiaal als de testorganismen het gehele jaar door verkrijgbaar zijn en aangezien deze test in het laboratorium, onder gestandaardiseerde omstandigheden wordt uitgevoerd, zijn er geen beperkingen ten aanzien van de periode waarin de test kan worden toegepast.

#### **G. Gevoeligheid:**

De Rotoxkit F-test is vooral gevoelig voor metalen (specifiek Cu en Hg) en insecticiden. Voor de specifieke gevoeligheid van deze test wordt verwezen naar bijlage 12.

#### **H. Ervaring bij waterbeheerders:**

Op dit ogenblik bestaat er reeds bij verschillende waterbeheerders (enige) ervaring met de Rotoxkit F-test. In het kader van een afstudeeropdracht (AquaSense, 1995) is het oppervlaktewater van enkele locaties in het beheersgebied van HH Rijnland bijvoorbeeld beoordeeld met de volgende technieken: acute watervlooiëntest, Rotoxkit F, Thamnotoxkit F, ECHA Biocide Monitor, Toxi-Chromotest en watervlooiën veldbioassay. In latere instantie zijn (ingevroren) watermonsters van deze locaties ook nog door de Universiteit van Gent beoordeeld met behulp van de Algaltoxkit F (nog niet gepubliceerd). Op een locatie kon een effect worden aangetoond met zowel de acute watervlooiëntest als met de watervlooiën veldbioassay. Op twee andere locaties kon met de Algaltoxkit F een effect worden aangetoond. Met de Rotoxkit F-test werden echter geen consistente effecten aangetoond.

Daarnaast wordt de Rotoxkit F-test op dit moment als proef toegepast door HH van Schieland, waarbij bekeken wordt of deze test gebruikt kan worden als aanvulling op de watervlooiën veldbioassay. Het doel hierbij is om met name buiten de glastuinbouwgebieden aanvullende informatie te krijgen over de actuele toxiciteit. Er zijn echter nog niet voldoende testresultaten voor handen om een oordeel over deze bioassay te kunnen geven.

De Rotoxkit F-test is tevens gebruikt voor het monitoren van XAD-geconcentreerd Maas- (AquaSense, 1994) en Rijnoppervlaktewater (Noij & Meerkerk (red.), 1995). Op één locatie na



bleken de concentraten van alle onderzochte locaties in de Maas toxisch te zijn voor *Brachionus calyciflorus*. Ook in de Rijn konden negatieve effecten met deze techniek worden gemeten.

Tenslotte zijn, volgens mevrouw Maas van het RIZA, Toxkits in het algemeen goed toe te passen bij het monitoren van oppervlaktewater, bij onderzoek naar de milieubezwaarlijkheid van afvalwater, bij handhaving en controle en bij saneringsonderzoek. Toxkits en andere nieuwe testen worden echter niet gezien als vervanging voor de conventionele bioassays, maar duidelijk als een welkome aanvulling (AquaSense, 1996).

#### I. Beschikbaarheid en kosten:

Deze test is als Rotoxkit F commercieel beschikbaar via AquaSense BV in Amsterdam. Deze toxkit bevat een gedetailleerde richtlijn (SOP), verbruiksmateriaal en rotiferen. Met één toxkit kunnen 6 complete verdunningsreeksen (1 blanco en 5 concentraties) met ieder 6 replica's per concentratie worden getest ter bepaling van de LC<sub>50</sub>. Indien alleen onverdunde watermonsters, met een dubbel aantal replica's worden getest, dan kunnen met één toxkit 3 blanco's en 15 monsters worden getest (per 5 monsters telkens 1 blanco meegenomen).

In het volgende schema worden de kosten (uitvoeringstijd en verbruiksmateriaal) geraamd voor het testen van 2 complete verdunningsreeksen en/of het screenen van 5 onverdunde monsters en 1 blanco met 12 replica's per monster. Hierbij is uitgegaan van het gebruik van de Rotoxkit.

Kosten					
Verbruiksmateriaal			Uitvoeringstijd*		
Laag (< f 500)	Middel (f 500 - f 1000)	Hoog (> f 1000)	Kort (< 1 dag)	Middel (1 - 3 dagen)	Lang (> 3 dagen)
X			X		

\*: Inclusief voorbereiding, uitvoering, dataverwerking en rapportage

Naast verbruiksmateriaal is voor de uitvoering van de Rotoxkit ook een kweekruimte (belichting en constante temperatuur) nodig. Een simpele kweekruimte ('Toxkit incubator') kan via AquaSense worden verkregen voor circa. f 500,-.

#### J. Aandachtspunten:

- Ter controle van de gevoeligheid van *Brachionus calyciflorus* en ter controle van de testprocedure wordt een test uitgevoerd met kaliumdichromaat als referentiestof. De LC<sub>50, 24hr</sub> dient tussen de 9,6 en 17,8 mg/l te liggen (Creasel, 1990). Eventueel kunnen op deze manier de door de leverancier opgegeven kwaliteitscriteria voor andere standaardstoffen eveneens worden geverifieerd.

#### K. Referenties:

(zie de literatuurlijst voor de volledige referenties)

ASTM E 1440, 1991; AquaSense, 1994, 1995, 1996; Botterweg, 1996; Burton *et al.*, 1990; Calleja *et al.*, 1994; Creasel, 1990; Maas *et al.*, 1994; Maas, 1995; Munawar *et al.*, 1989; Noij & Meerkerk, 1995; Norusis, 1992; Persoone *et al.*, 1993; Toussaint *et al.*, 1995; Willemsen *et al.*, 1995; Zimmer, 1993.

## Bijlage 5.

### **KROOSTEST (VELDBIOASSAY)**

#### **A. Algemeen principe:**

De Kroostest (veldbioassay) kan met drie kroossoorten (*Lemna minor*, *Lemna gibba* en *Spirodela polyrhiza*) worden uitgevoerd volgens het protocol zoals beschreven door het CML (Jong & Bergema, 1994). Bij voorkeur wordt hierbij gebruik gemaakt van planten afkomstig van een kweek. De test wordt in het veld uitgevoerd in drijvende (bioassay)compartimenten, waarvan de onder- en bovenzijde open is, zodat zonlicht direct op de planten kan vallen en uitwisseling met het water mogelijk is. Het geheel is in een kooi- of gaasconstructie geplaatst om vraat van vogels of vissen te voorkomen. De test wordt bij voorkeur (minimaal) in duplo uitgevoerd, waarbij elke duplo bestaat uit 8 verschillende compartimenten. Daarnaast dienen de duplo's ruimtelijk van elkaar gescheiden te zijn. Elk compartiment wordt bij aanvang van de test voor 10% bedekt met kroosplantjes. Na 4 weken blootstelling aan het oppervlaktewater wordt voor ieder compartiment het kroos-bedekkingspercentage bepaald en worden abnormale zaken (zoals verkleuring) genoteerd. Op basis van de bedekkingspercentages kan de groeisnelheid (toename in aantal kroosplantjes per dag) worden berekend. Het verschil in groeisnelheid ten opzichte van een controle en/of referentielocatie bepaalt in dit geval de mate van toxiciteit.

De kroostest kan eventueel ook worden gebruikt als bioaccumulatietest.

#### **B. Bijzonderheden t.a.v. de uitvoering binnen dit project (toepassing in keuzesysteem):**

De kroostest is binnen de huidige praktijktoets niet meegenomen omdat deze veldbioassay nog onvoldoende gestandaardiseerd is voor routinematige toepassing (zie H. Ervaring bij waterbeheerders). De techniek biedt echter wel veel perspectief. Voor een verdere doorontwikkeling van deze techniek zou een locatie gevonden moeten worden waar de kans op het detecteren van effecten als gevolg van (incidenteel) hoge herbicidengehalten reëel is, en zou een waterkwaliteitsbeheerder bereid moeten zijn om deze techniek in het veld verder te helpen ontwikkelen.

#### **C. Randvoorwaarden:**

Voor de kroostest zijn slechts voor de pH en de temperatuur ranges bekend, waarbinnen de waarden in het veld moeten liggen. De pH-waarde dient tussen 4 en 10 te liggen, de watertemperatuur bij voorkeur tussen 15 en 30 °C.

#### **D. Geldigheidscriteria:**

Bij het uitvoeren van de kroostest zijn de volgende geldigheidscriteria van toepassing (De Jong & Bergema, 1994):

- Het oppervlaktewatermonster moet voldoen aan de randvoorwaarden (zie C).
- De resultaten moeten eenduidig zijn;
- Er mag geen groot effect in de controle en/of op de referentielocatie opgetreden zijn.



#### **E. Beoordelingscriteria:**

Nadat gecontroleerd is of de uitgevoerde test aan de geldigheidscriteria voldoet (zie D), kunnen de resultaten van de test worden beoordeeld. Hiertoe wordt met behulp van een geschikte statistische methode getoetst of de groeisnelheid van het kroos (toename in aantal kroosplantjes per dag) statistisch significant van de groeisnelheid in de controle en/of op de referentielocatie verschilt.

Indien de groeisnelheid op de te onderzoeken locatie significant lager is dan in de controle en/of op de referentielocatie, wordt geconcludeerd dat het betreffende oppervlaktewater negatieve en dus toxische effecten op het kroos veroorzaakte.

#### **F. Toepassingsgebied en periode:**

De kroostest wordt toegepast bij de beoordeling van stoffen, bij beoordeling van de oppervlaktewaterkwaliteit (Smith & Kwan, 1989), van waterbodems (Jenner & Janssen-Mommen, 1993) en van vliegassechaat<sup>3</sup> (Jenner & Janssen-Mommen, 1989; 1993). De kroostest kan eventueel ook worden gebruikt als bioaccumulatietest (Smith & Kwan, 1989; Jenner & Janssen-Mommen, 1989).

De kroostest dient bij voorkeur te worden toegepast bij watertemperaturen boven de 15 °C en lager dan 30 °C (zie C). Bij lagere buitentemperaturen kan de test eventueel ook met watermonsters uit het veld in het laboratorium onder gestandaardiseerde omstandigheden worden uitgevoerd.

#### **G. Gevoeligheid:**

Als veldbioassay lijkt de test zeer geschikt voor het monitoren van met name herbiciden (Lockhart *et al.*, 1989; De Jong & Bergema, 1994) en algiciden (zie bijlage met de stoffeninformatie). Bovendien geeft de test goede correlaties (ook in het veld) met de gehalten aan pesticiden en is de test gevoelig voor metalen, met name voor cadmium (Smith & Kwan, 1989; Jenner & Janssen-Mommen, 1989). Voor de specifieke gevoeligheid van deze test wordt verwezen naar bijlage 13.

#### **H. Ervaring bij waterbeheerders:**

Alhoewel de kroostest als veldbioassay zeer geschikt lijkt voor het monitoren van met name herbiciden, is er bij de waterbeheerders tot nog toe weinig tot geen ervaring met deze test opgedaan. Er is veel over kroos (*Lemna*) bekend. Als voorbeeld kunnen de STOWA rapporten 92-09 (1992a) en 92-10 (1992b) over het ontstaan en bestrijden van deklagen van kroos worden genoemd. Kroos heeft veel voordelen als testorganisme: het is een simpel (één blad en één worteltje) en makkelijk in het laboratorium te kweken plantje, het komt vrijwel overal voor, en iedereen kent het. Bovendien geeft de kroostest goede correlaties (ook in het veld) met de gehalten van pesticiden en is relatief weinig materiaal nodig voor het uitvoeren van de test (simpele proefopstelling). Het bepalen van de groei aan het einde van de test (bepaling bedekkingsgraad) kan waarschijnlijk het beste en meest betrouwbaar worden gedaan m.b.v. 'image-processing' (zie begrippenlijst). Ook met het oog kan de bedekkingsgraad echter goed worden ingeschat.

Uit de gesprekken met de heren H. Jenner (KEMA) en F. de Jong (CML) werd echter ook duidelijk dat de kroostest zeker nog niet volledig gestandaardiseerd is. Een aantal vragen dienen nog te worden beantwoord, zoals bijvoorbeeld:

---

<sup>3</sup> Vliegassechaat: uitloossel van vliegase. Het vliegase is uitgeloozd volgens EPA-voorschrift (Federal Register, 1980): 24 uur schudden met een S(olid)/L(iquid)-verhouding 1/20 bij pH 5, welke constant gehouden wordt door toevoeging van 0,5 N azijnzuur (Janssen-Mommen & Jenner, 1987).

- Kan met één soort worden gewerkt (bij voorkeur), of moet er met een combinatie van kroossoorten worden gewerkt? (De deskundigen zijn het er wel over eens, dat het beste kan worden gewerkt met gekweekt kroos in plaats van met kroos uit het veld);
- Wat is de meest ideale proefopzet (aantal replica's, testruimte rond of vierkant, oppervlakte per testruimte, blootstellingsduur etc.)?;
- Is het mogelijk om direct vanuit een laboratoriumkweek (23 °C) een test in het veld in te zetten, of moet eerst een acclimatiseringsperiode worden ingelast?

#### I. Beschikbaarheid en kosten:

Deze test is niet commercieel beschikbaar. Er zijn enkele onderzoeksinstituten in Nederland die kroos in het laboratorium kweken en mogelijk bereid zijn om kroos te leveren.

In het volgende schema worden de kosten (uitvoeringstijd en verbruiksmateriaal) geraamd voor het testen van 5 locaties en 1 referentielocatie. In de schatting voor de kosten voor verbruiksmateriaal is mede uitgegaan van de aanschaf van in het laboratorium gekweekt kroos.

Kosten					
Verbruiksmateriaal			Uitvoeringstijd*		
Laag (< f 500)	Middel (f 500 - f 1000)	Hoog (> f 1000)	Kort (< 1 dag)	Middel (1 - 3 dagen)	Lang (> 3 dagen)
X				X	

\*: Inclusief voorbereiding, uitvoering, dataverwerking en rapportage

#### J. Aandachtspunten:

Het verdient aanbeveling om gedurende de test op minimaal één tijdstip (bijv. bij het inzetten of uithalen) een watermonster op dezelfde locatie te nemen ten behoeve van een aantal fysische en chemische analyses. Deze analyseresultaten kunnen vervolgens indicatief worden gebruikt om de testresultaten te interpreteren:

- Spelen de randvoorwaarden (zie C) mogelijk een rol bij het tot stand komen van het waargenomen effect?
- Zijn er chemische stoffen in een dermate hoge concentraties aanwezig dat deze mogelijk verantwoordelijk zijn voor het eventuele effect?

Tevens dient de kroostest verder te worden doorontwikkeld en uitgeprobeerd te worden.

#### K. Referenties:

(zie de literatuurlijst voor de volledige referenties)

Janssen-Mommen, & Jenner, 1987; Jenner & Janssen-Mommen, 1989; 1993; Jong & Bergema, 1994; Lockhart *et al.*, 1989; Munawar *et al.*, 1989; Smith & Kwan, 1989; STOWA 92-09 (1992a) en 92-10 (1992b); Zimmer, 1993.



## Bijlage 6.

# WATERVLOOIEN VELDBIOASSAY

### A. Algemeen principe:

De watervlooien veldbioassay wordt uitgevoerd met de watervlo *Daphnia magna* volgens de door het Hoogheemraadschap van Delfland toegepaste methode (Gorter & Mangelaars, 1994). De watervlooien zijn afkomstig van een gestandaardiseerde kweek. Voor de test worden uitsluitend vrouwtjes van circa 10 dagen oud gebruikt. In het veld wordt ter plekke één glazen pot met oppervlaktewater gevuld, waarna daarin 10 dieren worden geplaatst. De pot wordt vervolgens onderste boven, zwevend (doordat zich een luchtbel boven in de pot bevindt) in het water gehangen. De onderkant van de pot is afgesloten met gaas, zodat de watervlooien niet weg kunnen zwemmen, maar wel uitwisseling van oppervlaktewater mogelijk is. Na een blootstellingsduur van 1 week wordt de overleving, activiteit (actief of niet actief c.q. immobiel) en reproductie (aantal jongen) vergeleken met een referentielocatie.

### B. Bijzonderheden t.a.v. de uitvoering binnen dit project (toepassing in keuzesysteem):

Tijdens de voor dit project uitgevoerde praktijktoetsing is de hierboven beschreven uitvoering onveranderd toegepast. Voor het statistisch kunnen analyseren van de gegevens als mede voor het kunnen detecteren van geringe effecten, valt echter aan te bevelen om de test in triplo uit te voeren.

### C. Randvoorwaarden:

De test kan alleen worden uitgevoerd wanneer de watertemperatuur (voortdurend) boven de 6 °C ligt. Bij lagere temperaturen kan sterfte en de vorming van wintereieren optreden. Aangezien de temperatuur de enige fysisch-chemische parameter is waarvoor randvoorwaarden voor de watervlo onder veldcondities bekend zijn, zouden de randvoorwaarden geldend voor de watervlo bij chronische lab-bioassays in acht genomen kunnen worden (zie onderstaande tabel). Aanbevolen wordt om in de toekomst aanvullende randvoorwaarden voor de veldbioassay vast te stellen.

Voor een aantal fysisch-chemische parameters staan de waarden, waarbij tijdens de chronische blootstelling van *D. magna* in het laboratorium géén beïnvloeding van het testresultaat wordt verwacht (de zogenaamde randvoorwaarden), vermeld in de volgende tabel (Botterweg, 1996; Maas *et al.*, 1993 en Maas, 1995).

pH	O <sub>2</sub> (mg/l)	NO <sub>2</sub> <sup>-</sup> (mg/l)	NH <sub>4</sub> <sup>+</sup> (mg/l)	NH <sub>3</sub> (mg/l)	Cl <sup>-</sup> (g/l)	Geleidbaarheid (µS/mm)	Saliniteit (‰)
6 - 9	> 3	< 6	< 30	< 1,2	< 0,5	< 130	< 1

### D. Geldigheidscriteria:

Bij het uitvoeren van de watervlooien veldbioassay zijn de volgende geldigheidscriteria van toepassing:

- Het oppervlaktewatermonster moet voldoen aan de randvoorwaarden (zie C);
- De immobiliteit op referentielocatie mag maximaal 20% bedragen.



#### **E. Beoordelingscriteria:**

Nadat gecontroleerd is of de uitgevoerde test aan de geldigheidscriteria voldoet (zie D), kunnen de resultaten van de test worden beoordeeld. Hiertoe wordt, indien meer dan 1 pot per locatie is gebruikt, met behulp van een geschikte statistische methode getoetst of het percentage immobiele watervlooiën en/of de reproductie (aantal jongen/adult) in een bepaald oppervlaktewatermonster statistisch significant van de referentielocatie verschilt. Indien het percentage immobiele watervlooiën op de te onderzoeken locatie significant hoger is dan op de referentielocatie, wordt geconcludeerd dat het betreffende oppervlaktewater negatieve effecten op de watervloer veroorzaakte.

Tot nu toe wordt echter vrijwel nooit meer dan 1 pot per locatie uitgehangen. De praktijk wijst echter uit dat op referentielocaties de immobiliteit zelden meer dan 20% bedraagt. Wanneer dus meer dan 20% immobiliteit wordt waargenomen zou dus reeds van een matig effect gesproken kunnen worden. Wanneer alle watervlooiën immobiel zijn, dan is sprake van een zeer duidelijk negatief (toxisch) effect.

#### **F. Toepassingsgebied en periode:**

De watervlooiën veldbioassay is geschikt voor de beoordeling van de oppervlaktewaterkwaliteit, in zowel regionale als rijkswateren (Gorter & Mangelaars, 1994; Gorter *et al.*, 1996; Ruiters, 1995). Volgens Kamps-Mulder *et al.* (1996) is de assay een goede methode om effecten van *microverontreinigingen in het veld* aan te tonen. Bovendien kan met deze test de extrapolatie van lab naar veld eenvoudiger worden gemaakt (mededeling heer J. Hendriks, RIZA).

De test kan alleen worden uitgevoerd bij watertemperaturen boven de 6 °C, zodat deze dus niet bruikbaar is gedurende de wintermaanden.

#### **G. Gevoeligheid:**

De watervlooiën veldbioassay is waarschijnlijk voor dezelfde stoffen gevoelig als de acute watervlooiën lab-bioassay, namelijk metalen (vooral Hg, Cu, Cd) en bestrijdingsmiddelen (vooral de organofosforverbindingen) (Gorter & Mangelaars, 1994; Gorter *et al.*, 1996). Voor de specifieke gevoeligheid van deze test wordt verwezen naar bijlage 13.

#### **H. Ervaring bij waterbeheerders:**

Op dit ogenblik bestaat er reeds bij verschillende waterbeheerders (enige) ervaring met de watervlooiën veldbioassay. Zo wordt deze veldbioassay al vanaf 1990, 6 x per jaar toegepast door HH Delfland. Hun bevindingen hierbij zijn dat de test goedkoop en relatief gevoelig is voor *bestrijdingsmiddelen*. Daarnaast wordt er een organisme (*Daphnia magna*) gebruikt dat ook in het veld voorkomt en spreekt de test aan bij het grote publiek. Mede doordat in het beheersgebied van HH Delfland (in glastuinbouwgebieden) vaak veel en hoge concentraties (organofosfor)-bestrijdingsmiddelen aanwezig zijn, kunnen met deze veldbioassay regelmatig negatieve effecten worden aangetoond en kunnen de effecten worden verklaard op basis van de gehalten aan bestrijdingsmiddelen. De toets blijkt bovendien zeer illustratief te werken voor doelgroepen als bestuurders en glastuinbouworganisaties. Tevens spreken de resultaten meer aan dan chemische meetwaarden, aangezien normoverschrijdingen direct zichtbaar zijn (Gorter & Mangelaars, 1994 en Gorter *et al.*, 1996). Wegens deze redenen werd deze veldbioassay al snel door meer waterkwaliteitsbeheerders toegepast. Op dit moment is het de meest frequent toegepaste actieve biomonitoringstechniek. Naast HH Delfland is de bioassay ook reeds toegepast door HH Rijnland, HH Schieland, ZS Drenthe, ZS West-Overijssel, WS De Drie Ambachten en de provincie Utrecht. Door drie waterkwaliteitsbeheerders werd de bioassay als onbruikbaar beoordeeld, omdat hiermee



in hun beheersgebied géén negatieve effecten konden worden aangetoond, of omdat de relatie tussen waargenomen effect (sterfte en/of verminderde reproductie) en aanwezige verontreinigingen niet altijd even duidelijk was. De andere drie waterkwaliteitsbeheerders zijn (bijna) net zo positief over de toepasbaarheid van deze bioassay als HH Delfland.

Ook door het RIZA is de watervlo-veldbioassay naar tevredenheid toegepast in een aantal rijks- en regionale wateren (Ruiter, 1995). Deze veldbioassay wordt vooral gebruikt om de extrapolatie van het laboratorium naar de veldsituatie eenvoudiger te maken (mededeling heer J. Hendriks, RIZA) en het blijkt een goede methode om effecten van microverontreinigingen in het veld aan te tonen (Kamps-Mulder *et al.*, 1996). Voor een kortdurende testperiode (tot één week) blijkt de overleving de meest geschikte parameter te zijn, terwijl bij langere perioden ook de reproductie een zeer goede (en gevoelige) parameter is.

#### I. Beschikbaarheid en kosten:

Deze test is niet commercieel beschikbaar. Er zijn enkele instituten in Nederland die watervlooien in het laboratorium kweken en 10 dagen oude watervlooien kunnen leveren.

In het volgende schema worden de kosten (uitvoeringstijd en verbruiksmateriaal) geraamd voor het testen van 5 locaties en 1 referentielocatie, uitgaande van 3 replica's (potten) per locatie. In de schatting voor de kosten voor verbruiksmateriaal is mede uitgegaan van de aanschaf van in het laboratorium gekweekte watervlooien.

Kosten					
Verbruiksmateriaal			Uitvoeringstijd*		
Laag (< f 500)	Middel (f 500 - f 1000)	Hoog (> f 1000)	Kort (< 1 dag)	Middel (1 - 3 dagen)	Lang (> 3 dagen)
X				X	

\*: Inclusief voorbereiding, uitvoering, dataverwerking en rapportage

#### J. Aandachtspunten:

Het verdient aanbeveling om gedurende de test op minimaal één tijdstip (bijv. bij het inzetten of uithalen) een watermonster op dezelfde locatie te nemen ten behoeve van een aantal fysische en chemische analyses. Deze analyseresultaten kunnen vervolgens indicatief worden gebruikt om de testresultaten te interpreteren:

- Spelen de randvoorwaarden (pH, zuurstofgehalte etc.) mogelijk een rol bij het tot stand komen van het waargenomen effect?
- Zijn er chemische stoffen in een dermate hoge concentraties aanwezig dat deze mogelijk verantwoordelijk zijn voor het eventuele effect?

Voor de uitvoering van de test kan ook gebruik gemaakt worden van veel robuustere, maar relatief dure, roestvrijstalen testkooien (Biokorf), zoals ontwikkeld door het RIZA (Kamps-Mulder *et al.*, 1996). Voordeel van het gebruik van de biokorven is dat men niet naar het wateroppervlakte hoeft om de potten om te keren. Hierdoor kan vanaf grotere hoogten, zoals bijvoorbeeld bruggen worden gewerkt. Nadeel van het gebruik van de korven is dat niet in ondiep water gewerkt kan worden en dat de korven veel slib vangen (zie 5.3.2).

**K. Referenties:**

(zie de literatuurlijst voor de volledige referenties)

Gorter & Mangelaars, 1994; Gorter *et al.*, 1996; Kamps-Mulder *et al.*, 1996; Ruiter, 1995.



## Bijlage 7.

# BESCHRIJVING VAN DE MUGGELARVE VELDBIOASSAY

### A. Algemeen principe:

De muggelarve veldbioassay wordt uitgevoerd met de muggelarve *Chaoborus crystallinus* volgens het protocol zoals beschreven door het CML (Jong & Bergema, 1994). De dieren zijn moeilijk te kweken, maar kunnen op schone veldlocaties worden verzameld. Bij het inzetten van de test wordt een glazen pot met oppervlaktewater gevuld, waarna hierin 10 dieren worden geplaatst. De pot wordt vervolgens onderste boven, zwevend (doordat zich een luchtbel boven in de pot bevindt) in het water gehangen. De onderkant van de pot is afgesloten met gaas zodat de muggelarven niet weg kunnen zwemmen, terwijl uitwisseling van oppervlaktewater mogelijk blijft. Na een blootstellingsduur van 1 week wordt de overleving en de mobiliteit van de dieren vergeleken met die van een referentielocatie.

### B. Bijzonderheden t.a.v. de uitvoering binnen dit project (toepassing in keuzesysteem):

De muggelarve veldbioassay is binnen de huidige praktijktoets niet meegenomen, omdat deze veldbioassay nog onvoldoende is gestandaardiseerd en uitgetoetst (zie o.a. H. Ervaring bij waterbeheerders). De techniek biedt echter wel veel perspectief. Voor een verdere doorontwikkeling van deze techniek zou een locatie gevonden moeten worden waar de kans op het detecteren van effecten als gevolg van (incidenteel) hoge insecticidegehalten reëel is, en zou een waterkwaliteitsbeheerder bereid moeten zijn om deze techniek in het veld verder te helpen ontwikkelen.

Voor het statistisch kunnen analyseren van de gegevens als mede voor het kunnen detecteren van geringe effecten, valt aan te bevelen om de test in triplo uit te voeren.

### C. Randvoorwaarden:

Tot op heden zijn voor de muggelarve veldbioassay geen randvoorwaarden onder veldcondities bekend. Wellicht zouden daarom de randvoorwaarden geldend voor labbioassays met de muggelarve *Chironomus riparius* in acht genomen kunnen worden (zie onderstaande tabel). Aanbevolen wordt om in de toekomst aanvullende randvoorwaarden voor de muggelarve veldbioassay vast te stellen.

Voor een aantal fysisch-chemische parameters staan de waarden, waarbij tijdens de blootstelling van *C. riparius* in het laboratorium géén beïnvloeding van het testresultaat wordt verwacht (de zogenaamde randvoorwaarden), vermeld in de volgende tabel (Maas *et al.*, 1993).

pH	O <sub>2</sub> (mg/l)	NO <sub>2</sub> <sup>-</sup> (mg/l)	NH <sub>4</sub> <sup>+</sup> (mg/l)	NH <sub>3</sub> (mg/l)	Cl <sup>-</sup> (g/l)	Geleidbaarheid (μS/mm)
5 - 9	> 3	< 20	< 32	< 1,2	< 5,5	< 1200

### D. Geldigheidscriteria:

Bij het uitvoeren van de muggelarve veldbioassay zijn de volgende geldigheidscriteria van toepassing (Jong & Bergema, 1994):

- Het oppervlaktewatermonster moet voldoen aan de randvoorwaarden;
- De resultaten moeten eenduidig zijn;

- Er mag geen groot effect in de controle en/of op de referentielocatie opgetreden zijn.

#### **E. Beoordelingscriteria:**

Nadat gecontroleerd is of de uitgevoerde test aan de geldigheidscriteria voldoet (zie D), kunnen de resultaten van de test worden beoordeeld. Hiertoe wordt met behulp van een geschikte statistische methode getoetst of de overleving in een bepaald oppervlaktewatermonster statistisch significant van die op de referentielocatie verschilt. Indien de overleving op de te onderzoeken locatie significant lager is dan op de referentielocatie, wordt geconcludeerd dat het betreffende oppervlaktewater negatieve effecten op de muggelarve veroorzaakte.

#### **F. Toepassingsgebied en periode:**

De muggelarve veldbioassay is bruikbaar voor de beoordeling van oppervlaktewater.

Niet bekend is nog of er beperkingen zijn ten aanzien van de periode van toepassing en dan met name wat betreft de watertemperatuur.

#### **G. Gevoeligheid:**

De muggelarve *Chaoborus crystallinus* is gevoelig voor allerlei pesticiden en met name de insecticiden diflubenzuron en methylparathion (Jong & Bergema, 1994). De jonge, larvale stadia van deze muggelarve zijn mogelijk gevoeliger, maar deze organismen zijn lastiger te verkrijgen en te behandelen. Voor de specifieke gevoeligheid van deze test wordt verwezen naar bijlage 13.

#### **H. Ervaring bij waterbeheerders:**

Het RIZA heeft reeds enige ervaring opgedaan met muggelarve veldbioassays (Naber & Grootelaar, 1994). Deze veldbioassay is echter gericht op de beoordeling van de kwaliteit van verontreinigde sedimenten en niet op de beoordeling van de oppervlaktewaterkwaliteit. Ook wordt een andere dan de door het CML aanbevolen muggelarvesoort *Chaoborus crystallinus* gebruikt, namelijk *Chironomus riparius*. Deze soort is in tegenstelling tot *Chaoborus* echter wel eenvoudig te kweken, waardoor wellicht bij de beoordeling van oppervlaktewater ook beter van deze soort gebruik gemaakt kan worden. *C. riparius* heeft verder als voordeel dat er, in vergelijking tot *Chaoborus*, veel meer over deze soort bekend is. Volgens de heer A. Naber van het RIZA is vervanging van *Chaoborus* door *C. riparius* waarschijnlijk goed mogelijk, waarbij wellicht de bij het RIZA ontwikkelde biokorf kan worden toegepast. Men dient zich echter te realiseren, dat *Chaoborus* een rover (carnivoor) is en *Chironomus* niet. Daarnaast heeft *C. riparius* een substraat nodig voor het bouwen van kokertjes (woonbuisjes). Voor dit substraat kan wellicht gebruik gemaakt worden van (ongebleekte) papierpulp, aangezien dit in de laboratorium kweken goed blijkt te functioneren. Deze mogelijke vervanging van *Chaoborus* door een andere soort dient echter nog wel te worden uitgezocht en uitgetoet.

#### **I. Beschikbaarheid en kosten:**

Deze test is niet commercieel beschikbaar. Indien de muggelarve *Chironomus riparius* wordt gebruikt, dan kunnen deze door enkele instituten in Nederland, die deze muggen in het laboratorium kweken, worden geleverd.

In het volgende schema worden de kosten (uitvoeringstijd en verbruiksmateriaal) geraamd voor het testen van 5 locaties en 1 referentielocatie, uitgaande van 3 replica's (potten) per locatie. In de



schatting voor de kosten voor verbruiksmateriaal is mede uitgegaan van de aanschaf van in het laboratorium gekweekte muggelarven (*Chironomus riparius*).

Kosten					
Verbruiksmateriaal			Uitvoeringstijd*		
Laag (< f 500)	Middel (f 500 - f 1000)	Hoog (> f 1000)	Kort (< 1 dag)	Middel (1 - 3 dagen)	Lang (> 3 dagen)
	X			X	

\*: Inclusief voorbereiding, uitvoering, dataverwerking en rapportage

#### J. Aandachtspunten:

Het verdient aanbeveling om gedurende de test op minimaal één tijdstip (bijv. bij het inzetten of uithalen) een watermonster op dezelfde locatie te nemen ten behoeve van een aantal fysische en chemische analyses. Deze analyseresultaten kunnen vervolgens indicatief worden gebruikt om de testresultaten te interpreteren:

- Spelen de randvoorwaarden (pH, zuurstofgehalte etc.) mogelijk een rol bij het tot stand komen van het waargenomen effect?
- Zijn er chemische stoffen in een dermate hoge concentraties aanwezig dat deze mogelijk verantwoordelijk zijn voor het eventuele effect?

Indien gebruik wordt gemaakt van *Chironomus riparius*, dient de muggelarve veldbioassay verder te worden doorontwikkeld en uitgetoet te worden, bijvoorbeeld op het gebied van gebruik van papierpulp als substraat en het gebruik van een RIZA-biokorf.

#### K. Referenties:

(zie de literatuurlijst voor de volledige referenties)

Jong & Bergema, 1994; Maas *et al.*, 1993; Naber & Grootelaar, 1994;

## Bijlage 8.

# BESCHRIJVING VAN DE DF-ALGENTEST

### A. Algemeen principe:

De DF-Algentest (biologisch bewakingssysteem, biomonitor) maakt gebruik van de algen *Scenedesmus subspicatus*, *Chlamydomonas reinhardtii* en/of *Microcystis aeruginosa*. De algen zijn afkomstig uit een gestandaardiseerde kweek. Het principe van de techniek is gebaseerd op de vertraagde fluorescentie (DF = Delayed Fluorescence). Wanneer algencellen van licht naar donker worden verplaatst kan een rode lichtemissie gemeten worden. Deze emissie is sterk afhankelijk van de reactiesnelheid van de elektronentransportketen in het chlorofyl (een onderdeel van de fotosynthese). Door blootstelling aan verontreinigd oppervlaktewater wordt deze reactiesnelheid beïnvloed, waardoor het verschil in reactiesnelheid ten opzichte van een controle de mate van toxiciteit bepaalt. Met dit systeem wordt semi-continu gemeten (elke 30 minuten een meting), waarbij de resultaten on-line naar een computer worden door gestuurd.

### B. Bijzonderheden t.a.v. de uitvoering binnen dit project (toepassing in keuzesysteem):

De DF-Algentest is binnen de huidige praktijktoets niet meegenomen. Het systeem is onlangs in het laboratorium van RIZA in Lelystad uitgeprobeerd met *Chlamydomonas reinhardtii* als testorganisme. De bevindingen hierbij zijn positief (Oosthoek, 1996). De eerste bevindingen worden verder beschreven bij H, "ervaring bij waterbeheerders".

### C. Randvoorwaarden:

Oosthoek (1996) stelde voor enkele fysisch-chemische parameters waarden vast, waarbij tijdens blootstelling géén nadelige effecten op *Chlamydomonas reinhardtii* worden verwacht (de zogenaamde randvoorwaarden). Zo bleek een temperatuur tussen de 5 en 36 °C geen nadelig effect op de DF (Delayed Fluorescentie) te hebben. Een aantal andere randvoorwaarden staan weergegeven in onderstaande tabel. Voor de fysisch-chemische parameters, die nog niet zijn onderzocht, zou indicatief kunnen worden uitgegaan van de randvoorwaarden geldend voor *R. subspicata* in de acute algentest. Daarom staan de randvoorwaarden voor *R. subcapitata* tevens vermeld in deze tabel.

Testorganisme	pH	O <sub>2</sub> (mg/l)	NH <sub>4</sub> <sup>+</sup> (mg/l)	NO <sub>2</sub> <sup>-</sup> (mg/l)	NH <sub>3</sub> (mg/l)	Cl <sup>-</sup> (mg/l)	Geleidbaarheid (µS/cm)
<i>C. reinhardtii</i> <sup>1</sup>	7 - 10	nb	< 560 <sup>3</sup>	nb <sup>4</sup>	nb	< 560 <sup>3</sup>	nb
<i>R. subcapitata</i> <sup>2</sup>	8,3 ± 1		< 45	< 500	< 2,4	nb	nb

<sup>1</sup>: Gebaseerd op Oosthoek, 1996

<sup>2</sup>: Gebaseerd op Botterweg, 1996, Maas et al, 1993 en Maas, 1995

<sup>3</sup>: Deze waarden zijn geen ondergrenzen, maar de hoogste geteste concentraties. Er was geen effect waarneembaar in de concentratiereeks (Oosthoek, 1996).

<sup>4</sup>: Nitriet is buiten beschouwing gelaten omdat de concentratie in het oppervlaktewater een factor 3000 lager ligt dan het nitrietgehalte in het kweekmedium van de algen. De concentratie in het oppervlaktewater zal dientengevolge geen invloed hebben (Oosthoek, 1996).

nb: Niet bekend.



**D. Geldigheidscriteria:**

Bij het uitvoeren van de DF-Algentest is het volgende geldigheids criterium van toepassing:

- Het oppervlaktewatermonster moet voldoen aan de randvoorwaarden (zie C).

**E. Beoordelingscriteria:**

Wanneer voldaan is aan de geldigheids criteria (zie D), dan kunnen de testresultaten verder worden beoordeeld. Voorlopig is door het RIZA de alarmgrens (grens waarboven sprake is van een negatief effect) gesteld op 15% verschil met een gelijktijdig gemeten blancowater (hierbij is de keuze gevallen op kopervrij leidingwater). Deze grens moet echter nog op de praktijksituatie worden afgestemd (Oosthoek, 1996).

**F. Toepassingsgebied en periode:**

De DF-Algentest is bruikbaar voor de beoordeling van waterige monsters (oppervlaktewater, afvalwater, elutriaat, poriewater) en waterbodems (Universität Regensburg Institut II - Festkörperphysik, 1993).

De DF-Algentest lijkt vanwege het grote temperatuurrange waarbij géén negatieve effecten worden waargenomen (5 tot 36 °C: zie C) een groot deel van het jaar inzetbaar.

**G. Gevoeligheid:**

De test is gevoelig voor metalen (conform andere algentesten), algiciden, herbiciden en andere bestrijdingsmiddelen, met name voor Na-PCP en atrazine (Universität Regensburg Institut II - Festkörperphysik, 1993, Bund/Länder-Projektgruppe "Wirkungstests Rhein" (WIR), 1995). Voor de specifieke gevoeligheid van deze test wordt verwezen naar bijlage 14.

**H. Ervaring bij waterbeheerders:**

Door het RIZA is in de eerste helft van 1996 een DF-Algentest aangeschaft en onlangs in het laboratorium van RIZA in Lelystad uitgeprobeerd met *Chlamydomonas reinhardtii* als testorganisme. De bevindingen hierbij zijn positief: het systeem blijkt betrouwbaar te zijn, het apparaat is makkelijk te bedienen en vraagt weinig onderhoud (Oosthoek, 1996). Bij het Rijkswaterstaatmeetstation Lobith wordt op dit moment gewerkt aan de praktijkimplementatie van dit systeem (mededeling mevrouw Kamps-Mulder, RIZA).

**I. Beschikbaarheid en kosten:**

De DF-Algentest is commercieel beschikbaar via de Universität Regensburg (Brd). De aanschafkosten bedragen circa. f 60.000,-. De bedrijfskosten ('running costs') worden geschat op circa f 1750,- per week (Zwart, 1995).

**J. Aandachtspunten:**

Voor deze test zijn een aantal aandachtspunten van praktische aard geformuleerd:

- De implementatie van biomonitoringstechnieken, zoals de DF-algentest, vergt de nodige tijd voor de implementatie op de praktijklocatie en het vertrouwd raken van het personeel met deze systemen;

- Vals alarm kan ontstaan doordat de algenconcentratie in het te testen water te hoog is, de concentratie van de algencultuur in de monitor te laag is, of doordat de detector niet goed is afgesteld (Bund/Länder-Projektgruppe "Wirkungstests Rhein" (WIR), 1995);
- In vervolgonderzoek dient nog aandacht besteed te worden aan zaken zoals het vaststellen van de betrouwbaarheid van het systeem, het opstellen van meer, en het aanscherpen van bestaande randvoorwaarden en het opstellen van een kwaliteitscontrole (Oosthoek, 1996).

## K. Referenties:

(zie de literatuurlijst voor de volledige referenties)

Botterweg, 1996; Bund/Länder-Projektgruppe "Wirkungstests Rhein" (WIR), 1995; Bundesministerium für Forschung und Technologie, 1993; Maas et al, 1993; Maas, 1995; Oosthoek, 1996; Universität Regensburg Institut II - Festkörperphysik, 1993; Zwart, 1995.



## Bijlage 9.

# BESCHRIJVING VAN DE DYNAMISCHE DAPHNIATEST

### A. Algemeen principe:

De Dynamische Daphniatest (biologisch bewakingssysteem cq. biomonitor) maakt gebruik van de watervlo *Daphnia magna*. De watervlooiën zijn afkomstig uit een gestandaardiseerde kweek. Het systeem bestaat uit twee testkamers die ieder continu worden doorstroomd met oppervlaktewater. Per testkamer worden 20 juveniele watervlooiën geplaatst. Deze watervlooiën worden na een week vervangen (d.w.z. vlak voordat de eerste jongen worden gereproduceerd). Met behulp van infrarode lichtbundels en lichtsensoren wordt de zwemactiviteit van deze watervlooiën continu gemeten. Het aantal onderbrekingen van de lichtbundels per tijdseenheid is een maat voor de zwemactiviteit. Deze signalen worden on-line door een computer geregistreerd en verwerkt. Onder invloed van toxische stoffen zal de zwemactiviteit gaan afwijken van de 'normale' zwemactiviteit, zoals die vlak voor de verstoring door de computer statistisch is berekend. De situatie vlak voor verstoring dient dus als een in de tijd veranderende referentie. De computer berekend hierbij telkens een nieuwe, aangepaste alarmwaarde. Bij een bepaalde mate van verstoring wordt deze dynamische alarmwaarde overschreden en wordt een signaal afgegeven.

### B. Bijzonderheden t.a.v. de uitvoering binnen dit project (toepassing in keuzesysteem):

De Dynamische Daphniatest is binnen de huidige praktijktoets niet meegenomen. Het systeem wordt echter reeds op de RIZA meetstations bij Lobith (Rijn) en bij Eijsden (Maas) toegepast (zie H, "ervaring bij waterbeheerders").

### C. Randvoorwaarden:

Aangezien op dit moment voor de watervlo *Daphnia magna* geen randvoorwaarden bekend zijn geldend voor een continue blootstelling onder veldcondities, wordt aanbevolen om tot het verschijnen van geschiktere randvoorwaarden, uit te gaan van de randvoorwaarden voor de watervlo in acute lab-bioassays. Voor een aantal fysisch-chemische parameters staan deze waarden, waarbij tijdens een acute blootstelling van *D. magna* in het laboratorium géén beïnvloeding van het testresultaat wordt verwacht (de zogenaamde randvoorwaarden), vermeld in de volgende tabel (Botterweg, 1996; Maas *et al.*, 1993 en Maas, 1995).

pH	O <sub>2</sub> (mg/l)	NO <sub>2</sub> <sup>-</sup> (mg/l)	NH <sub>4</sub> <sup>+</sup> (mg/l)	NH <sub>3</sub> (mg/l)	Cl <sup>-</sup> (g/l)	Geleidbaarheid (µS/mm)	Saliniteit (‰)
5,5 - 9	> 3	< 48	< 100	< 3,8	< 3	< 640	< 5

Aanbevolen wordt om in de toekomst aanvullende randvoorwaarden voor de Dynamische Daphniatest vast te stellen.

### D. Geldigheidscriteria:

Bij het uitvoeren van de Dynamische Daphnia-test is het volgende geldigheidscriterium van toepassing:

- Het oppervlaktewatermonster moet voldoen aan de randvoorwaarden.

**E. Beoordelingscriteria:**

Door een on-line geschakelde computer wordt de zwemactiviteit van de watervlooien permanent vergeleken met de activiteit zoals die vlak voor de verstoring door de computer statistisch is berekend. De situatie vlak voor verstoring dient dus als een in de tijd veranderende referentie. Bij een bepaalde mate van verstoring wordt deze dynamische alarmwaarde overschreden en wordt een signaal afgegeven. Dit alarmsignaal kan vervolgens een aantal acties (automatisch) in werking stellen (bijv. uitgebreide monsternamen). Voor een verdere interpretatie van de gegevens zal allereerst beoordeeld moeten worden of 1) er tijdens de test aan de randvoorwaarden (zie C) werd voldaan en 2) of de controle en het apparaat goed functioneerde.

**F. Toepassingsgebied en periode:**

De Dynamische Daphniatest is bruikbaar voor de kwaliteitsbeoordeling van oppervlaktewater en afvalwater. Bij regeling van de watertemperatuur is de test gedurende het gehele jaar inzetbaar (het apparaat is in staat een continue watertemperatuur met een variatie van 2 graden te handhaven, Elektron-GmbH, 1995). De temperatuur in de monitor mag variëren tussen de 10 en 28 °C, maar ligt bij voorkeur tussen de 18 en 22 °C.

**G. Gevoeligheid:**

De gevoeligheid van de Dynamische Daphniatest ligt beneden of rond de acute toxiciteit van stoffen voor de watervlo *Daphnia magna* zoals die in lab-bioassays worden vastgesteld (Noppert & Hendriks, 1995): de test is gevoelig voor metalen, organofosforbestrijdingsmiddelen en andere bestrijdingsmiddelen zoals etrimfos, parathion, diazinon en nitrobenzeen (zie bijlage 14 met de stoffeninformatie en zie Hendriks & Stouten, 1993).

**H. Ervaring bij waterbeheerders:**

Op de RIZA meetstations bij Lobith (Rijn) en bij Eijsden (Maas) wordt het oppervlaktewater continu biologisch bewaakt met zowel de Dynamische Daphniatest als de Aqua-Tox-Control *Leuciscus* (een vis). De Dynamische Daphniatest blijkt minder robuust te zijn dan de vismonitor, maar wel veel gevoeliger. Het aantal alarmmeldingen bedraagt 1 à 2 per jaar (zie Noppert & Hendriks, 1995 en Hendriks & Stouten, in Hendriks (ed.), 1994).

**I. Beschikbaarheid en kosten:**

Dit testsysteem is commercieel beschikbaar via Elektron GmbH (Brd). De aanschafkosten bedragen, afhankelijk van de uitvoering, circa f 35.000,- tot f 50.000,-. De bedrijfskosten ('running costs') worden geschat op circa f 1750,- per week (Zwart, 1995).

**J. Aandachtspunten:**

Voor deze test zijn een aantal aandachtspunten van praktische aard geformuleerd:

- De implementatie van biomonitoringstechnieken zoals de Dynamische Daphniatest vergt de nodige tijd voor technische aanpassingen en het vertrouwd raken van het personeel met deze systemen;
- Het meetsignaal kan worden verstoord door controle- en onderhoudswerkzaamheden, het openen van de frontplaat van het systeem, verstopping van de aanvoer en aanzuiging van lucht. De technische onvolkomenheden kunnen worden opgevangen met 8-10 uur onderhoud per



week om aangroei van vuil en slib in de slangen en in de testkamers te voorkomen (Noppert & Hendriks, 1995). Op de lange termijn zullen wellicht apparaten op de markt komen die minder onderhoud vergen, maar nu nog in ontwikkeling zijn (Stouten *et al.*, 1993);

- Bij toepassing op slibrijk oppervlaktewater blijkt het *Daphnia*-systeem erg verstoppingsgevoelig te zijn. Zonder een effectief filtersysteem, dat tevens voldoende voedingsstoffen doorlaat, kan het apparaat niet naar behoren functioneren. Een gaswasfles met teflonwatten in combinatie met voorbezinking is een afdoende methode (Stouten *et al.*, 1993; Noppert & Hendriks, 1995);
- Stijging van de temperatuur en het voedselaanbod in de zomer zijn verantwoordelijk voor een toename van de gemeten activiteit door een snellere groei van de watervlooien en het optreden van reproductie. Het apparaat is echter in staat een continue watertemperatuur met een variatie van 2 graden te handhaven (Elektron-GmbH, 1995);
- Uit ervaringen met het continu inzetten van de Dynamische *Daphnia*-test is gebleken dat de meetgegevens de eerste vier uur na een alarm of na het opnieuw instellen van het apparaat niet beoordeeld kunnen worden (Bund/Länder-Projektgruppe "Wirkungstests Rhein" (WIR), 1995);
- Het biologische bewakingssysteem met watervlooien bevat verschillende onderdelen, waardoor er sprake kan zijn van duidelijk verschillende versies van het systeem. Omdat het alarmniveau steeds gebaseerd is op de ervaringen bij een specifiek oppervlaktewater, is dat geen probleem voor de metingen zelf. Teneinde de vergelijkbaarheid in absolute zin te vergroten verdient het echter wel de aanbeveling te streven naar ijking van de bewaking op diverse locaties. (Stouten *et al.*, 1993);
- Op basis van praktijkervaringen kan voor de Dynamische *Daphnia*-test een aantal voorwaarden worden geformuleerd, die voor een optimale en efficiënte werking noodzakelijk zijn (Stouten *et al.*, 1993):
  - een personele inzet van 8 à 10 uur per week voor systeem en kweek;
  - installatie van een effectief filtersysteem;
  - automatische verwerking van de meetgegevens met mogelijkheid tot instelling van flexibele alarmgrenzen;
  - opzetten en handhaven van een watervlooienkweek;
  - regeling van de temperatuur van het testwater, en
  - regeling van de omgevingstemperatuur.

## K. Referenties:

(zie de literatuurlijst voor de volledige referenties)

Bund/Länder-Projektgruppe "Wirkungstests Rhein" (WIR), 1995; Bundesministerium für Forschung und Technologie, 1993; DBW/RIZA, sine anno; Elektron GmbH, 1995; Hendriks, 1993; Hendriks (ed.), 1994; Hendriks & Stouten, 1993; Noppert & Hendriks, 1995; Stouten *et al.*, 1993; Zwart 1995.

## Bijlage 10.

# BESCHRIJVING VAN DE MOSSELMONITOR

### A. Algemeen principe:

De Mosselmonitor (biologische bewakingsstelsel cq. biomonitor) kan gebruik maken van zowel zoet- (*Dreissena polymorpha* of *Unio pictorum*) als zoutwatermosselen (*Mytilus edulis*). De dieren worden in het algemeen op een schone veldlocatie verzameld. In het stelsel worden 8 mosselen bevestigd, waarna het als geheel in het oppervlaktewater wordt gehangen. Deze mosselen worden elke twee tot drie maanden vervangen. Onder invloed van toxische stoffen zullen de mosselen hun geopende kleppen (gedeeltelijk) sluiten. De afstand tussen beide schaalhelften wordt elektronisch gemeten en de signalen worden on-line door een computer geregistreerd en verwerkt. De mate van sluiting wordt continu vergeleken met de 'normale' openingstoestand zoals die vlak voor de verstoring door de computer statistisch is berekend. De situatie vlak voor verstoring dient dus als een in de tijd veranderende referentie. De computer berekent hierbij telkens een nieuwe, aangepaste alarmwaarde. Bij een te hoge mate van sluiting wordt deze dynamische alarmwaarde overschreden en wordt een signaal af gegeven.

### B. Bijzonderheden t.a.v. de uitvoering binnen dit project (toepassing in keuzesysteem):

De mosselmonitor is binnen de huidige praktijktoets niet meegenomen. Het stelsel wordt echter reeds geruime tijd toegepast door het WRK om de kwaliteit van het inlaatwater uit het Lekkanaal te bewaken, en heeft enkele jaren ook op het RIZA Meetstation bij Lobith (Rijn) gestaan (zie H, "ervaring bij waterbeheerders").

### C. Randvoorwaarden:

Voor de mosselmonitor kan gebruik gemaakt worden van zowel zoet- (*Dreissena polymorpha* of *Unio pictorum*) als zoutwatermosselen (*Mytilus edulis*). Er is momenteel echter nog maar weinig bekend over de randvoorwaarden voor deze mosselen. In de praktijk is wel gebleken, dat het aantal bewegingen van de schalen van *Dreissena polymorpha* afhangt van de temperatuur. Bij een lage en een hoge temperatuur is het procentueel aandeel mosselen dat openstaat hoger dan bij een middelmatige temperatuur. Verder is er een positieve correlatie waargenomen tussen het percentage openstaande *Dreissena* en het chlorofylgehalte alsmede een negatieve correlatie met het zuurstofgehalte. Er is tevens een dagelijks ritme in het percentage openstaande *Dreissena* waar te nemen. Bij watertemperaturen van 22-25°C blijkt bovendien de mortaliteit sterk toe te nemen. Volgens Deltaconsult (Deltaconsult, 1991) is een korte periode (< enkele dagen) van een verlaagd zuurstofgehalte of zuurstofloosheid bij de mosselmonitor geen probleem.

### D. Geldigheidscriteria:

Strikte geldigheidscriteria voor de mosselmonitor zijn op dit moment niet voorhanden.

### E. Beoordelingscriteria:

Door een on-line geschakelde computer wordt de openingstoestand van de mossels permanent vergeleken met de stand zoals die vlak voor de verstoring door de computer statistisch is berekend. De situatie vlak voor verstoring dient dus als een in de tijd veranderende referentie. Bij een bepaalde mate van verstoring wordt deze dynamische alarmwaarde overschreden en wordt een signaal afgegeven. Dit alarmsignaal kan vervolgens een aantal acties (automatisch) in werking



stellen (bijv. uitgebreide monsternamen). Voor een verdere interpretatie van de gegevens zal allereerst beoordeeld moeten worden of 1) er tijdens de test aan de randvoorwaarden (indien bekend) werd voldaan en 2) of de controle en het apparaat goed functioneerde.

#### **F. Toepassingsgebied en periode:**

De mosselmonitor is toe te passen voor het monitoren van effluent, oppervlaktewater en waterinlaten (drinkwater, aquacultures) (Deltaconsult, 1991; Kramer *et al.*, 1989), als 'early warning system', voor toxiciteitstesten en voor fysiologische studies en gedragstudies (Kramer *et al.*, 1989). Bij een regeling van de watertemperatuur is de Mosselmonitor het gehele jaar door inzetbaar.

#### **G. Gevoeligheid:**

De mosselmonitor met de zoetwatermossel *Dreissena polymorpha* is gevoelig voor metalen (met name koper) en zeer gevoelig voor bestrijdingsmiddelen als TBTO (Jenner *et al.*, 1991), NaOCL, lindaan (Bund/Länder-Projektgruppe "Wirkungstests Rhein" (WIR), 1995; Borcharding, 1992; Borcharding & Volpers, s.a.), PCP (Bund/Länder-Projektgruppe "Wirkungstests Rhein" (WIR), 1995; Borcharding, 1992; Borcharding & Volpers, s.a.), atrazine, nitrofenol (Borcharding, 1992; Borcharding & Volpers, s.a.) en chloorpyrifos (zie bijlage met de stoffeninformatie). De mosselmonitor met de zoutwater mossel *Mytilus edulis* is uiterst gevoelig voor metalen (vooral koper) en zeer gevoelig voor bestrijdingsmiddelen als TBTO, NaOCl (cq. vrij chloor), lindaan, PCP en chloorpyrifos (zie verder bijlage 14).

#### **H. Ervaring bij waterbeheerders:**

De Mosselmonitor is sinds januari 1995 operationeel bij het WRK om de kwaliteit van het inlaatwater uit het Lekkanaal te bewaken. Technisch gezien werkt het systeem perfect. Op één set mosselen draait het systeem circa drie maanden. Alleen het vinden van de optimale instelling voor de alarmwaarde kost enige tijd. Dit is iets dat bij alle biologische bewakingssystemen dient te gebeuren om zo het aantal vals positieve signalen (wel alarm, maar géén toxische stoffen aanwezig) dan wel vals negatieve waarden (géén alarm, maar wel toxische stoffen aanwezig) te optimaliseren (mededeling heer E. Penders, WRK). Van de drie bij het WRK ingezette biologische bewakingssystemen (Mosselmonitor, Aqua-Tox-Control *Daphnia* en Aqua-Tox-Control *Leuciscus*) spreekt de Mosselmonitor in het algemeen het minst tot de verbeelding. Het reguliere onderhoud hoeft niet per se door een speciaal hiervoor opgeleide biologisch analist te worden uitgevoerd. Het kan ook worden gedaan door een meer chemisch of technisch geschoolde medewerker.

Enkele jaren geleden heeft ook op het RIZA Meetstation bij Lobith (Rijn) een Mosselmonitor gestaan, die naast de Dynamische Daphniatest en de Aqua-Tox-Control *Leuciscus* functioneerde. Het aantal alarmmeldingen was vergelijkbaar met beide andere systemen (mededeling heer J. Hendriks, RIZA).

#### **I. Beschikbaarheid en kosten:**

Dit testsysteem is commercieel beschikbaar via Delta Consult BV. De aanschafkosten bedragen circa f 35.000,-. De bedrijfskosten ('running costs') worden geschat op circa f 750,- per week (Zwart, 1995).

## **J. Aandachtspunten:**

Ervaringen in de praktijk wijzen uit dat:

- Het vinden van de optimale instelling van de monitor en de alarmwaarde enige tijd kost;
- Het systeem over het algemeen tot ca één uur na het optreden van een alarm immuun is voor een nieuw alarm, afhankelijk van de specifieke verontreiniging, de concentratie en de duur van het alarm (Deltaconsult, 1991);
- De mosselen na twee tot drie maanden vervangen dienen te worden (Deltaconsult, 1991).

## **K. Referenties:**

(zie de literatuurlijst voor de volledige referenties)

Borcherding, 1992; Borcherding & Volpers, sine anno.; Bund/Länder-Projektgruppe "Wirkungstests Rhein" (WIR), 1995; Deltaconsult, 1991; Jenner, 1991; Jenner *et al.*, 1991; Kramer *et al.*, 1989; Munawar *et al.*, 1989; RIZA & Haskoning, 1990; Zwart, 1995.



## **Bijlage 11.**

Stoffeninformatie 1: Overzicht van de gevoeligste technieken

NB: Niet alle waarden zijn afkomstig van testen met eenzelfde organisme, tijdsduur en/of eindpunt. De afwijkende waarden moeten derhalve als indicatief worden gezien (*zie* verder de opmerkingen in paragraaf 2.5 en bijlage 12, 13 en 14).

Bijlage 'stofinformatie'

Gevoeligheid voor specifieke stoffen	(n = aantal technieken waarvoor toxiciteitswaarde voor de betreffende stof is gevonden)		"Gevoeligste"		"Gevoeligste"		"Gevoeligste"			
	Laagste waarde alle technieken (µg/l)	Laagste waarde lab. bioassays (µg/l)	n	test of techniek	Laagste waarde veld-bioassays (µg/l)	n	test of techniek	Laagste waarde biol. bewaking (µg/l)	n	test of techniek
Niet alle waarden zijn afkomstig van testen met eenzelfde organisme en/of tijdsduur, deze waarden zijn indicatief (zie bijlage 12, 13 en 14 voor meer bijzonderheden)										
<b>1. Metalen</b>										
Arseen	100	100	4	Acute algentest	0	0	0	0	0	-
Arseen (As3-)	630	3390	2	Microtox Lumistox	630	1	Kroostest	0	0	-
Arseen (As5-)	5400	5400	4	Acute waterplooiëntest	22200	1	Kroostest	43000	1	Aqua-Tox-Control (Leuciscus)
Cadmium	20	20	9	Acute waterplooiëntest	90	2	Kroostest	150	3	Mosselmonitor (zoet)
Chroom	160	160	6	Acute algentest	12235	1	Muggelarme veldbioassay	12000	1	Aqua-Tox-Control (Leuciscus)
Chroom (Cr3+)	770	770	2	Acute waterplooiëntest	0	0	-	0	0	-
Chroom (Cr4+)	2300	2300	1	Microtox Lumistox	0	0	-	0	0	-
Chroom (Cr6+)	350	350	4	Acute waterplooiëntest	0	0	-	0	0	-
Kaliumdichromaat (Cr6+)	320	3400	3	Microtox Lumistox	320	1	Kroostest	31000	1	Aqua-Tox-Control (Leuciscus)
Koper	10	10	8	Acute waterplooiëntest	54	2	Muggelarme veldbioassay	10	2	Mosselmonitor (zoet)
Kwik	5	5	5	Acute waterplooiëntest	400	1	Muggelarme veldbioassay	750	1	Aqua-Tox-Control (Leuciscus)
Lood	250	310	6	Microtox Lumistox	31280	1	Muggelarme veldbioassay	250	1	Mosselmonitor (zoet)
Nikkel	500	500	4	Acute algentest	0	0	-	0	0	-
Selenium	100	0	2	-	2900	1	Kroostest	100	1	Mosselmonitor (zoet)
Selenium (Se4+)	1700	0	1	-	1700	1	Kroostest	0	0	-
Selenium (Se6+)	5300	0	1	-	5300	1	Kroostest	0	0	-
Zink	60	60	8	Acute algentest	290	2	Kroostest	500	2	Mosselmonitor (zoet)



Gevoeligheid voor specifieke stoffen	(n = aantal technieken waarvoor toxiciteitswaarde voor de betreffende stof is gevonden)		"Gevoeligste" test of techniek		"Gevoeligste" test of techniek		"Gevoeligste" test of techniek				
	Laagste waarde alle technieken (µg/l)	Laagste waarde lab. bioassays (µg/l)	Laagste waarde waterbioassays (µg/l)	Laagste waarde veldbioassays (µg/l)	Laagste waarde waterbioassays (µg/l)	Laagste waarde veldbioassays (µg/l)	Laagste waarde biol. beproeving (µg/l)				
Niet alle waarden zijn afkomstig van testen met eenzelfde organisme en/of tijdsduur, deze waarden zijn indicatief (zie bijlage 12, 13 en 14 voor meer bijzonderheden)											
<b>2. Organochloor bestrijdingsmiddelen</b>											
Aldrin	0.8	4	28	2	Acute watervlooiëntest	0.8	1	Muggelarve veldbioassay	2.6	1	Aqua-Tox-Control (Leuciscus)
alfa-HCH	500	2	500	2	Acute algentest	0	0	-	0	0	-
beta-HCH	1000	1	1000	1	Acute algentest	0	0	-	0	0	-
Chloordaan	97	1	97	1	Acute watervlooiëntest	0	0	-	0	0	-
DDD	0.18	3	4.6	1	Acute watervlooiëntest	0.18	1	Muggelarve veldbioassay	14	1	Aqua-Tox-Control (Leuciscus)
DDE	1	3	1	3	Acute watervlooiëntest	3	1	Muggelarve veldbioassay	32	1	Aqua-Tox-Control (Leuciscus)
DDT	0.4	5	0.4	3	Acute algentest	4.7	1	Muggelarve veldbioassay	1.5	1	Aqua-Tox-Control (Leuciscus)
Dichloorpropan (1,2-)	58900	1	58900	1	Microtox / Lumistox	0	0	-	0	0	-
Dichloorpropen (1,3-)	5000	3	5000	2	Acute algentest	0	0	-	9000	1	Aqua-Tox-Control (Leuciscus)
Dieldrin	0.5	3	145	2	Acute watervlooiëntest	0.5	1	Muggelarve veldbioassay	0	0	-
Endosulfan (alfa + sulfaat)	0	0	0	0	-	0	0	-	0	0	-
Endosulfan sulfaat	3	3	200	1	Acute watervlooiëntest	300	1	Muggelarve veldbioassay	3	1	Aqua-Tox-Control (Leuciscus)
Endosulfan (alfa)	2.3	5	62	4	Acute watervlooiëntest	2.3	1	Muggelarve veldbioassay	0	0	-
Endosulfan (alfa) (veld)	0	2	0	0	-	0	0	-	0	2	-
Endosulfan (beta)	0	0	0	0	-	0	0	-	0	0	-
Endrin	0.19	4	0.57	2	Acute watervlooiëntest	12.97	1	Muggelarve veldbioassay	0.19	1	Aqua-Tox-Control (Leuciscus)
HCH-verbindingen	0	0	0	0	-	0	0	-	0	0	-
Heptachloor	1.1	4	28.2	2	Acute algentest	1.1	1	Muggelarve veldbioassay	3.77	1	Aqua-Tox-Control (Leuciscus)
Heptachloorepoxyde	5.3	3	120	1	Acute watervlooiëntest	10	1	Muggelarve veldbioassay	5.3	1	Aqua-Tox-Control (Leuciscus)
Hexachloorbutadieën	150	1	0	0	-	0	0	-	150	1	Mosselmonitor (zoet)
Hexachloorethaan	1300	3	1400	2	Acute watervlooiëntest	0	0	-	1300	1	Aqua-Tox-Control (Leuciscus)
Lindaan (gamma-HCH)	2	9	485	4	Acute watervlooiëntest	3.6	1	Muggelarve veldbioassay	2	4	Aqua-Tox-Control (Leuciscus)
Trichlooretheen	50530	1	50530	1	Microtox / Lumistox	0	0	-	0	0	-
VOX	0	0	0	0	-	0	0	-	0	0	-
<b>3. Chloorfenolen</b>											
3,5-Dichloorfenol	1700	3	1700	2	Acute watervlooiëntest	0	0	-	8300	1	Aqua-Tox-Control (Leuciscus)
Monochloorfenol	0	0	0	0	-	0	0	-	0	0	-
Natriumpentachloorfenolaat (Na-PCP)	10.6	3	150	2	Microtox / Lumistox	0	0	-	10.6	1	DF-Algentest
Natriumpentachloorfenolaat (Na-PCP) (	120	2	0	0	-	0	0	-	120	2	Mosselmonitor (zoet)
Pentachloorfenol (PCP)	10	9	80	4	Microtox / Lumistox	110	2	Muggelarve veldbioassay	10	3	Mosselmonitor (zoet)



Bijlage 'stoffeninformatie'

Gevoeligheid voor specifieke stoffen	n = aantal technieken waarvoor toxiciteitswaarde voor de betreffende stof is gevonden)		"Gevoeligste" test of techniek		"Gevoeligste" test of techniek		"Gevoeligste" test of techniek	
	Laagste waarde alle technieken (µg/l)	Laagste waarde lab-bioassays (µg/l)	Laagste waarde bioassays (µg/l)	Laagste waarde veld-bioassays (µg/l)	Laagste waarde veld-bioassays (µg/l)	Laagste waarde veld-bioassays (µg/l)	Laagste waarde veld-bioassays (µg/l)	n
<b>4. Organofosfor bestrijdingsmiddelen</b>								
Azinofos-ethyl	3.2	2	3.2	2	Acute waterflooiëntest	0	0	0
Azinofos-methyl	0.18	4	0.18	2	Acute waterflooiëntest	1.5	1	Muggelarve veldbioassay
Bromofos-ethyl	8.6	3	8.6	2	Acute waterflooiëntest	0	0	-
Chloorfenvinifos	0.1	4	0.1	2	Acute waterflooiëntest	0.7	1	Muggelarve veldbioassay
Chloorpyrifos	0.07	5	110	2	Acute waterflooiëntest	0.07	1	Muggelarve veldbioassay
Cholinesterase remming	0	0	0	0	-	0	0	0
Cumafos	0.1	1	0.1	1	Acute waterflooiëntest	0	0	0
Demeton(-S-methylsulfon)	29900	3	29900	2	Acute algentest	0	0	-
Diazinon	0.03	7	0.522	4	Acute waterflooiëntest	0.03	1	Muggelarve veldbioassay
Dichloorvos	0.028	4	0.028	2	Acute waterflooiëntest	0.1	1	Muggelarve veldbioassay
Dimethoaat	43	5	2500	2	Acute waterflooiëntest	43	2	Muggelarve veldbioassay
(Omethoaat; metaboliet Dimethoaat)	21	3	21	2	Acute waterflooiëntest	0	0	0
Disulfoton	0.4	2	0.4	1	Acute waterflooiëntest	0	0	0
Ethoprofos	50	3	50	2	Acute waterflooiëntest	0	0	0
Ethimfos	3.7	4	3.7	2	Acute waterflooiëntest	0	0	0
Fenitrothion	1.6	4	1.6	3	Acute waterflooiëntest	0	0	0
Fenitron	0.8	1	0.8	1	Acute waterflooiëntest	0	0	0
Foxim	0	0	0	0	-	0	0	0
Heptenofos	2	3	2	2	Acute waterflooiëntest	0	0	0
Malathion	0.098	6	0.098	4	Acute waterflooiëntest	0.34	1	Muggelarve veldbioassay
Mevinfos	0.18	4	0.18	2	Acute waterflooiëntest	5	1	Muggelarve veldbioassay
Oxydemethon-methyl	3.3	4	3.3	2	Acute waterflooiëntest	35	1	Muggelarve veldbioassay
Parathion (methyl + ethyl)	0.2	4	0.2	3	Acute waterflooiëntest	0	0	0
Parathion-ethyl	0.023	4	0.028	2	Acute waterflooiëntest	0.023	1	Muggelarve veldbioassay
Parathion-methyl	0.14	4	0.14	2	Acute waterflooiëntest	0	0	0
Propetamifos	100	1	0	0	-	0	0	0
Pyrazofos	0.18	3	0.18	2	Acute waterflooiëntest	0	0	0
Thiometon	400	4	8200	2	Acute waterflooiëntest	0	0	0
Tolclofos-methyl	790	3	19900	2	Acute waterflooiëntest	0	0	0
Triazofos	3	3	3	2	Acute waterflooiëntest	0	0	0
Trichloorfon	0.08	5	0.08	3	Acute waterflooiëntest	0.1	1	Muggelarve veldbioassay

Niet alle waarden zijn afkomstig van testen met eenzelfde organisme en/of tijdsduur, deze waarden zijn indicatief (zie bijlage 12, 13 en 14 voor meer bijzonderheden)



Gevoeligheid voor specifieke stoffen	n = aantal technieken waarvoor toxiciteitswaarde voor de betreffende stof is gevonden		"Gevoeligste" test of techniek		"Gevoeligste" test of techniek		"Gevoeligste" test of techniek	
	Laagste waarde alle technieken ( $\mu\text{g/l}$ )	Laagste waarde lab-bioassays ( $\mu\text{g/l}$ )	Laagste waarde veld-bioassays ( $\mu\text{g/l}$ )	Laagste waarde veld-bioassays ( $\mu\text{g/l}$ )	Laagste waarde veld-bioassays ( $\mu\text{g/l}$ )	Laagste waarde biol. bewaking ( $\mu\text{g/l}$ )		
<b>5. Chloorbenzenen</b>								
Hexachloorbenzenen	16	3	16	2	Acute watervlooiëntest	0	0	-
Monochloorbenzenen	120	3	120	2	Acute watervlooiëntest	0	0	-
Dichloorbenzenen (1,3 of meta)	720	3	720	2	Acute watervlooiëntest	0	0	-
Pentachloorbenzenen	300	1	300	1	Acute watervlooiëntest	0	0	-
Nitrobenzenen	4	4	11100	3	Acute algentest	0	0	-
<b>6. Fenolherbijden</b>								
Dinoseb	32	2	1800	1	Acute watervlooiëntest	0	0	-
Dinoterb	3.4	3	470	2	Acute watervlooiëntest	0	0	-
DNOC (4,6-Dinitro-o-cresol)	66	6	145	3	Acute watervlooiëntest	66	2	Muggelarve veldbioassay
<b>7. Carbaamaten</b>								
Aldicarb	17	4	51	2	Acute watervlooiëntest	17	1	Muggelarve veldbioassay
Aldicarb sulfon	250	3	250	2	Acute watervlooiëntest	0	0	-
Aldicarb sulfoxide	43	3	43	2	Acute watervlooiëntest	0	0	-
Benomyl	170	4	640	2	Acute watervlooiëntest	7000	1	Muggelarve veldbioassay
Carbendazim	340	3	340	2	Acute algentest	0	0	-
Carbofuran	23	5	23	3	Acute watervlooiëntest	56	1	Muggelarve veldbioassay
Chloorprofam	684	4	684	2	Acute algentest	748	1	Kroostest
Methiocarb (Methomyl)	8.8	3	8.8	2	Acute watervlooiëntest	0	0	-
Oxamyl	170	4	420	2	Acute watervlooiëntest	170	1	Muggelarve veldbioassay
Primicarb	14	3	14	2	Acute watervlooiëntest	0	0	-
Propoxur	11	5	11	3	Acute watervlooiëntest	13	1	Muggelarve veldbioassay
<b>8. Dithiocarbamaten</b>								
Maneb	2.4	5	2.4	3	Acute watervlooiëntest	0	1	-
MITC (omzettingsproduct Metam-Na)	7800	1	0	0	-	7800	1	Muggelarve veldbioassay
Thiram	0.06	4	0.06	2	Acute watervlooiëntest	390	1	Muggelarve veldbioassay
Zincb	970	4	970	3	Acute watervlooiëntest	0	0	-

Niet alle waarden zijn afkomstig van testen met hetzelfde organisme en/of tijdsduur, deze waarden zijn indicatief (zie bijlage 12, 13 en 14 voor meer bijzonderheden)





Gevoeligheid voor specifieke stoffen	n = aantal technieken waarvoor toxiciteitswaarde voor de betreffende stof is gevonden		"Gevoeligste" test of techniek		"Gevoeligste" test of techniek		"Gevoeligste" test of techniek	
	Laagste waarde alle technieken (µg/l)	Laagste waarde lab-bioassays (µg/l)	Laagste waarde veld-bioassays (µg/l)	Laagste waarde	Laagste waarde	Laagste waarde biol. bewaking (µg/l)	n	n
Niet alle waarden zijn afkomstig van testen met eenzelfde organisme en/of tijdsduur, deze waarden zijn indicatief (zie bijlage 12, 13 en 14 voor meer bijzonderheden)								
<b>13. Fenyliureum herbiciden</b>								
Alachloor	9	5	119	3	Acute algentest	9	1	Kroostest
Chloortoluron	9	4	38	2	Acute algentest	9	1	Kroostest
Diuron	11	7	13	3	Acute algentest	11	3	Kroostest
Isoproturon	3.2	3	3.2	2	Acute algentest	0	0	-
Isoproturon (veld)	0	0	0	0	-	0	0	-
Linuron	10	4	10	3	Acute algentest	0	0	-
Methabenzthiazuron	29	4	42	2	Acute algentest	29	1	Kroostest
Metobromuron	260	3	260	2	Acute algentest	0	0	-
Metoxuron	64	3	64	2	Acute algentest	0	0	-
Monolinuron	1	3	1	2	Acute algentest	0	0	-
Monuron	228670	1	228670	1	Microtox / Lumistox	0	0	-
Monuron (veld)	0	0	0	0	-	0	0	-
<b>14. Carboximiden</b>								
Captaf	1000	3	1000	2	Acute algentest	1500	1	Muggelarve veldbioassay
Vinchlozolin	4000	3	4000	2	Acute waterflooientest	0	0	-
								Aqua-Tox-Control (L.leuciscus)

Bijlage 'stoffeninformatie'

Gevoeligheid voor specifieke stoffen	(n = aantal technieken waarvoor toxiciteitswaarde voor de betreffende stof is gevonden)											
	Laagste waarde <u>alle technieken</u> (µg/l)	n	Laagste waarde <u>lab-bioassays</u> (µg/l)	n	"Gevoeligste" test of techniek	Laagste waarde <u>veld-bioassays</u> (µg/l)	n	"Gevoeligste" test of techniek	Laagste waarde <u>biol. bewaking</u> (µg/l)	n	"Gevoeligste" test of techniek	
Niet alle waarden zijn afkomstig van testen met eenzelfde organisme en/of tijdsduur, deze waarden zijn indicatief (zie bijlage 12, 13 en 14 voor meer bijzonderheden)												
<b>15. PAK's</b>												
Anthraceen	1.3	5	1.5	3	Acute algentest	27	1	Muggelarve veldbioassay	1.3	1	Aqua-Tox-Control (Leuciscus)	
Benzo(b)fluorantheen	0	0	0	0	-	0	0	-	0	0	-	
Chryseen	0.7	1	0.7	1	Acute watervlooiëntest	0	0	-	0	0	-	
Naftaleen	120	5	680	3	Microtox /Lumistox	2800	1	Muggelarve veldbioassay	120	1	Aqua-Tox-Control (Leuciscus)	
Benzo(a)anthraceen	1.8	2	1.8	2	Acute watervlooiëntest	0	0	-	0	0	-	
Benzo(a)pyreen	1.5	2	1.5	2	Acute watervlooiëntest	0	0	-	0	0	-	
Benzo(ghi)peryleen	0.15	2	0.2	1	Acute watervlooiëntest	0	0	-	0.15	1	Aqua-Tox-Control (Leuciscus)	
Benzo(k)fluorantheen	1.4	1	1.4	1	Acute watervlooiëntest	0	0	-	0	0	-	
Dibenzo(ah)anthraceen	0.4	1	0.4	1	Acute watervlooiëntest	0	0	-	0	0	-	
Fenantreen	30	5	210	3	Microtox /Lumistox	490	1	Muggelarve veldbioassay	30	1	Aqua-Tox-Control (Leuciscus)	
Fluorantheen	4	5	4	3	Acute watervlooiëntest	32	1	Muggelarve veldbioassay	200	1	Aqua-Tox-Control (Leuciscus)	
Indeno(1,2,3-cd)pyreen	0	0	0	0	-	0	0	-	0	0	-	
Pyreen	4	2	4	1	Acute watervlooiëntest	20	1	Muggelarve veldbioassay	0	0	-	
<b>16. PCB's</b>												
PCB 28	0	0	0	0	-	0	0	-	0	0	-	
PCB 52	0	0	0	0	-	0	0	-	0	0	-	
PCB 101	0	0	0	0	-	0	0	-	0	0	-	
PCB 118	0	0	0	0	-	0	0	-	0	0	-	
PCB 138	0	0	0	0	-	0	0	-	0	0	-	
PCB 153	0	0	0	0	-	0	0	-	0	0	-	
PCB 180	0	0	0	0	-	0	0	-	0	0	-	
som 6 PCB's	0	0	0	0	-	0	0	-	0	0	-	
som 7 PCB's	0	0	0	0	-	0	0	-	0	0	-	



Gevoeligheid voor specifieke stoffen	Laagste waarde alle technieken (µg/l)		Laagste waarde lab-bioassays (µg/l)		Laagste waarde veld-bioassays (µg/l)		Laagste waarde biol. beproeving (µg/l)		"Gevoeligste" test of techniek	n	"Gevoeligste" test of techniek	n
	n	Laagste waarde	n	Laagste waarde	n	Laagste waarde	n	Laagste waarde				
<b>17. Diversen</b>												
1,2-Dichloorethaan	4	158000	2	Microtox /Lumistox	0	0	0	0	-	2	Dynamische Daphniatest	2
2,4-Dichlooramline (2,4-DCA)	2	3980	1	Microtox /Lumistox	1000	1	Kroostest	0	0	0	-	0
3,4-Dichlooramline	3	446	2	Microtox /Lumistox	0	0	-	3600	1	Dynamische Daphniatest	1	Dynamische Daphniatest
Aceton	7000000	7000000	3	Acute algentest	13000000	1	Muggelarve veldbioassay	9880000	1	Aqua-Tox-Control (Leuciscus)	1	Aqua-Tox-Control (Leuciscus)
Ammonia (niet geïoniseerd)	800	800	3	Acute watervlooiëntest	0	0	-	1400	1	Aqua-Tox-Control (Leuciscus)	1	Aqua-Tox-Control (Leuciscus)
Bentazon	750	7689	2	Acute algentest	1033	1	Kroostest	750	2	Mosselmonitor (zoet)	2	Mosselmonitor (zoet)
Chloorthalonil	0	0	1	-	0	0	-	0	0	0	0	0
Chloorfenol (ortho of 2)	510	510	2	Microtox /Lumistox	0	0	-	20000	1	Dynamische Daphniatest	1	Dynamische Daphniatest
Cyanide (KCN)	80	80	2	Acute watervlooiëntest	0	0	-	100	2	Aqua-Tox-Control (Leuciscus)	2	Aqua-Tox-Control (Leuciscus)
Deiquat	11	11	2	Acute algentest	0	0	-	0	0	1	-	1
Deltaamethrin	0.038	0.038	1	Acute watervlooiëntest	0.29	1	Muggelarve veldbioassay	0.58	1	Aqua-Tox-Control (Leuciscus)	1	Aqua-Tox-Control (Leuciscus)
Dichloormethaan	1000000	1000000	1	Microtox /Lumistox	0	0	-	0	0	0	0	0
Fenol	1000	7000	3	Acute watervlooiëntest	0	0	-	1000	3	Dynamische Daphniatest	3	Dynamische Daphniatest
Hypochloride (NaOCl)	37	100	1	Microtox /Lumistox	0	0	-	37	1	Mosselmonitor (zoet)	1	Mosselmonitor (zoet)
Isophoron	0	0	0	-	0	0	-	0	0	0	0	0
LAS (Linear alkyl benzene sulfonate)	480	0	0	-	0	0	-	480	1	Dynamische Daphniatest	1	Dynamische Daphniatest
2,4-Dinitrofenol (lab)	160	6100	1	Microtox /Lumistox	0	0	-	160	1	DF-Algentest	1	DF-Algentest
2,4-Dinitrofenol (veld)	0	0	0	-	0	0	-	0	0	0	0	0
Minerale olie (gedispergeerd)	32000	2	32000	1	Acute watervlooiëntest	0	0	0	0	1	-	1
Paraquat	11	4	4000	3	Acute watervlooiëntest	11	1	Kroostest	0	0	0	0
Permethrin	0.2	5	0.2	3	Acute watervlooiëntest	0.56	1	Muggelarve veldbioassay	5.4	1	Aqua-Tox-Control (Leuciscus)	1
Prometryn	41	4	46	2	Acute algentest	41	1	Kroostest	2900	1	Aqua-Tox-Control (Leuciscus)	1
Pyrazon (Chloridazon)	180	4	180	2	Acute watervlooiëntest	4876	1	Kroostest	34000	1	Aqua-Tox-Control (Leuciscus)	1
Tetrachloorethaan	5370	1	5370	1	Microtox /Lumistox	0	0	-	0	0	0	0
Tetrachloorethyleen	4180	1	4180	1	Microtox /Lumistox	0	0	-	0	0	0	0
Tetrachloormethaan	5600	1	5600	1	Microtox /Lumistox	0	0	-	0	0	0	0
Toluene	6100	4	15000	2	Acute watervlooiëntest	0	0	-	6100	2	Mosselmonitor (zoet)	2
Trichloorethyleen	8000	6	42750	3	Microtox /Lumistox	64000	1	Muggelarve veldbioassay	8000	2	Mosselmonitor (zoet)	2
Trichloormethaan (Chloroform)	32000	4	429000	2	Microtox /Lumistox	0	0	-	32000	2	Aqua-Tox-Control (Leuciscus)	2
Xyleen	11900	2	16000	1	Microtox /Lumistox	0	0	-	11900	1	Mosselmonitor (zoet)	1

Niet alle waarden zijn afkomstig van testen met eenzelfde organisme en/of tijdsduur, deze waarden zijn indicatief (zie bijlage 12, 13 en 14 voor meer bijzonderheden)



## **Bijlage 12.**

### Stoffeninformatie 2: Overzicht van de lab-bioassays

NB: Niet alle waarden zijn afkomstig van testen met eenzelfde organisme, tijdsduur en/of eindpunt. De afwijkende waarden moeten derhalve als indicatief worden gezien.

#### **Referenties:**

- [5] Kaiser, K.L.E. & Devillers, J. (1994). Ecotoxicity of chemicals to *Photobacterium phosphoreum*. . Gordon and Breach Science Publishers, Amsterdam: 879 p.
- [10] Murphy, S. R. & Balogh, J.C. (1993). DATATOX V2.0. Toxicity & Chemical fate, Personal computer system. Spectrum Research, Inc., Duluth, Minnesota, April 1993.
- [26] Toussaint, M.W., Shedd, T.R., van der Schalie, W.H., & Leather, G.R. (1995). A comparison of standard acute toxicity tests with rapid-screening toxicity tests. *Environmental Toxicology and Chemistry* : 14: 907-915.
- [51] Rijn, J.P. van, Straalen, N.M. van, & Willems, J. (1992). Handboek bestrijdingsmiddelen. Gebruik en milieu-effecten. VU Uitgeverij, Amsterdam: 153 p.
- [140] Luttkik, R., Baumann, R.A., & van der Wal, B. (1991). Bestrijdingsmiddelen in oppervlaktewater van het Westland (1989/90). Rapport nr: 711001007. Rijksinstituut voor Volksgezondheid en Milieuhygiene RIVM, Bilthoven: 88 p.
- [148] Linders, J.B.H.J., Jansma, J.W., Mensink, B.J.W.G., & Otermann, K. (1994). Pesticides: Benefaction or pandora's box? A synopsis of the environmental aspects of 243 pesticides. Report no. 679101014. Rijksinstituut voor Volksgezondheid en Milieuhygiene RIVM, Bilthoven: 204 p.
- [149] Koten-Vermeulen, J.E.M. van & Canton, J.H. (1988). Voorstellen voor (no) effectlevels van een aantal bestrijdingsmiddelen voor het aquatisch ecosysteem op basis van literatuuronderzoek. Rapportnummer 747612001. Rijksinstituut voor Volksgezondheid en Milieuhygiene RIVM, Bilthoven: 32 p.
- [180] Maas, J.L., A. Naber en J. Botterweg (1994). Toxiciteit en mutageniteit van acht industriële effluenten voor zoetwaterorganismen. Vergelijking van de gevoeligheid van zoet- en zoutwaterorganismen. Werkdocument nr. 93.171X, Rijkswaterstaat RIZA, februari 1994.
- [181] Munawar, M., Dixon, G., Mayfield, C.I., Reynoldson, T. & Sadar, M.H. (1989). Environmental bioassay techniques and their application. Proceedings of the 1st International Conference held in Lancaster, England, 11-14 July 1988. Kluwer Academic Publishers, 1989.
- [373] Ordelman, H.G.K., van Noort, P.C.M., van Steenwijk, J.M., Beurskens, J.E.M., Faasen, R., Beek, M.A., and Evers, E.H.G. (1994). Watersysteemverkenningen 1996. Een analyse van de problematiek in aquatisch milieu. Fenolherbiciden. Dinoseb, Dinoterb, DNOC, Lelystad, RIZA, 1994.p. 98
- [374] Ordelman, H.G.K., van Noort, P.C.M., van Steenwijk, J.M., ten Hulscher, T.E.M., and Evers, H.G. (1993). Watersysteemverkenningen 1996. Een analyse van de problematiek in aquatisch milieu. Triazinen. Anilazen, atrazin, cyanazin, cyromazin, desmetryn, prometryn, propazin, simazin, terbutryn, terbutylazin, Lelystad, RIZA, 1993.p. 138
- [375] Ordelman, H.G.K., van Noort, P.C.M., van Steenwijk, J.M., ten Hulscher, T.E.M., Beek, M.A., Botterweg, J., Faasen, R., Frintrop, P.C.M., and Evers, H.G. (1993). Watersysteemverkenningen 1996. Een analyse van de problematiek in aquatisch milieu. Dithiocarbomaten. Mancozeb, maneb, metam-natrium, metiram, natrium- dimethyldithiocarbamaat, thiram, tri-allaat, zineb, ziram, Lelystad, RIZA, 1993.p. 119
- [376] Ordelman, H.G.K., Stortelder, P.B.M., ten Hulscher, T.E.M., Wagemaker, F.H., van Steenwijk, J.M., Botterweg, J., Frintrop, P.C.M., and Evers, H.G. (1993). Watersysteemverkenningen 1996. Een analyse van de problematiek in aquatisch milieu. Carbamaten, Lelystad, RIZA, 1993.p. 137



- [377] Ordelman, H.G.K., van Noort, P.C.M., Hulscher, T.E.M.t., Beek, M.A., van Steenwijk, J.M., Frintrop, P.C.M., and Evers, E.H.G (1994). Watersysteemverkenningen 1996 Organofosforbestrijdingsmiddelen, een analyse van de problematiek in aquatisch milieu, Lelystad, RIZA, 1994.p. 186
- [379] Grossmann, K., Berghaus, R. & Retzlaff, G. (1992). Heterotrophic cell suspension cultures for monitoring biological activity in agrochemical research. Comparison with screens using algae, germinating seeds and whole plants. *Pestic. Sci.* 35: 283-289.
- [380] Kalf, D.F, Crommentuijn, G.H., Posthumus, R. & van de Plassche, E.J. (1995). Integrated environmental quality objectives for polycyclic aromatic hydrocarbons (PAH's). RIVM report no. 679101018. December 1995.
- [381] Gaggi, C. *et al.* (1995). Toxicity and Hazard Ranking of s-triazine herbicides using Microtox, two green algal species and a marine crustacean. *Environmental Toxicology and Chemistry*. Volume 14, no. 6, pp 1065-1069
- [382] Munkittrick, K.R., Power, E.A. & Sergy, G.A. (1991). The relative sensitivity of Microtox, Daphnid, Rainbow Trout, and Fathead Minnow Acute Lethality Tests. *Environmental Toxicology and Water Quality*, Vol. 6, 35-62
- [383] Sloof, W. (1983). Biological effects of chemical pollutants in the aquatic environment and their indicative value. PhD Thesis, April 1983
- [AT] = AquaTox: BKH (1992). Database management program: AquaTox. Version 2.0 BKH Consulting engineers, Delft.
- [DA] = Datatox = [10]

PS: Toxiciteitwaarden waarachter geen bijzonderheden zijn vermeld zijn overgenomen uit een van de bronnen zoals vermeld in de referentielijst bij de beschrijving van de technieken in bijlage 1, 2, 3 of 4 (zie inventarisatierapport: STOWA, 1997).

Gevoeligheid voor specifieke stoffen		Acute agentest		Microtox / Lumistox		Acute water/voeltest		Retoxidit F	
1	1	6	6	16	16	16	16	12	12
72 uur	EC50	30 minuten	EC20	48 uur	EC50	24 uur	EC50	µg/l	µg/l
Niet alle waarden zijn afkomstig van testen met eenzelfde organisme en/of tijdsduur, deze waarden zijn indicatief									
<b>I. Metalen</b>									
Arseen (As3+)	100	Scenedesmus, chron. LOEC [Voncke, 1980]	4900	15min EC50 [180]	1040	48u LC50 [AT, Sanders 1966]	12100	24u LC50 [RU Gent/Creaseil]	
Arseen (As5+)			35000	5 min EC50 [382]	5400	D. magna, 48u LC50 [382]			
Cadmium	40	Selenstrum, 96u EC50gr [26]	5400		20	48u LC50 [382]	1200	24u LC50 [RU Gent/Creaseil]	
Chroom (Cr3+)	160	Chlorella, EC50gr, [180]	13000	30min EC50 [5]	350		8270	24u LC50 [RU Gent/Creaseil]	
Chroom (Cr4+)			10700		770				
Chroom (Cr6+)			2300						
Chroom (Cr6+)			15000		350		8270		
Kaliumdichromaat (Cr6+)			3400	30 min EC20 [5]			13700		
Koper	40	Selenstrum, 96u EC50gr [26]	76		10	48u LC50 [382]	26	24u LC50 [RU Gent/Creaseil]	
Kwik			10	30min EC50 [181]	5		53	24u LC50 [RU Gent/Creaseil]	
Lood	500	Chlorella, EC50gr, [180]	310		335		6318	24u LC50 [RU Gent/Creaseil]	
Nikkel	500	Chlorella, EC50gr, [180]	20000	15min EC50 [180]	7300		4000	24u LC50 [RU Gent/Creaseil]	
Selenium									
Selenium (Se4+)									
Selenium (Se6+)									
Zink	60	Selenstrum, 96u EC50gr [26]	270		540		2420	24u LC50 [RU Gent/Creaseil]	



Bijlage 'stoffeninformatie'

Gevoeligheid voor specifieke stoffen	1	1	6	6	16	16	12	12
Acute algentest	72 uur	72 uur	Microtox / Lumistox	EC20	EC50	Acute waterloofentest	Rotokid F	
	µg/l	µg/l		µg/l	µg/l		µg/l	
<i>Scenedesmus, Chlorella, Selenastrum, Selenastrum</i>			<i>F. phosphoreum</i>		<i>D. magna, Daphnia sp.</i>	<i>B. calyciflorus</i>		
Niet alle waarden zijn afkomstig van testen met dezelfde organisme en/of tijdsduur, deze waarden zijn indicatief								
2. Organochloor bestrijdingsmiddelen								
Aldrin	910	Anacystis nidulans, 26u NOECgroei [AT]			28	<i>D. magna</i> , 48u EC50 [140]		
alfa-HCH	500	Scenedesmus, 5d LOEC [DA]			800	48u EC50 [149]		
beta-HCH	1000	Scenedesmus, 5d LOEC [DA]			97			
Chloordaan					4-6	<i>D. magna</i> 26u EC50 [140]		
DDT					1	<i>Bosmina longirostris</i> , 96u EC50 [AT, Novak, 1980]		
DDT	0.4	<i>Chlorella sp.</i> , 72u LOEC [DA]	10	10 mm NOEC [S]	0.5	<i>D. magna</i> , 48u LC50 [140]		
Dichloofopropaan (1,2-)								
Dichloofopropaan (1,3-)	5000	algem, 96u EC50 [S1]			6200	Kroelachgenen, 48u LC50 [S1]		
Diieldin	1000	<i>Chlorella</i> , 7d NOECgr [AT]			145	1.083d EC50 [DA]		
Endosulfan sulfaat					200	<i>D. magna</i> , 48u LC50 [140]		
Endosulfan sulfaat (alfa)	2000	<i>Chlorella</i> , 5d NOEC alfa + beta [140]	>250	10 mm NOEC [S]	62	48u LC50 [DA]	5150	24u LC50 (RU GentCreaseil)
Endosulfan (alfa) (veld)								
Endosulfan (beta)								
Endrin	480	Scenedesmus, chron LOECgr [AT, EPA, 1990]			0.57	72u LC50 [DA, Trnkova, 1977]		
HCH-verbindingen								
Hepachloor	28.2	<i>Selenastrum</i> , 96u EC50 [DA]			52	1.083d EC50 [DA]		
Hepachlooropoxide					120	1.083d LC50* [DA]		
Hexachloorbutadieen								
Hexachloorcyclohexaan								
Lindaan (gamma-HCH)	500	Scenedesmus, 5d LOEC [DA]	8300	30 mm EC50 [382]	1400	<i>D. magna</i> , 48u LC50 [382]		
Trechlooretheen			50530	15 mm EC20 [S]	485	48u LC50 [DA]	3402.9	
VOX								
3. Chloortenolen								
3,5-Dichloofenol			3000	5 mm EC50 [S]	1700	<i>D. magna</i> , 48u LC50 [382]		
Monochloofenolen								
Natrumpentachloofenolaat (Na-PCP)			150	15 mm EC50 [S]			1200	
Natrumpentachloofenolaat (Na-PCP) (								
Pentachloofenol (PCP)	340		80	5 mm EC50 [S]	100	<i>D. magna</i> , 48u LC50 [382]	400	

Gevoeligheid voor specifieke stoffen	1	1	6	6	16	16	12	12
Acute algentest	Acute algentest	Microtox /Amistox	Microtox	Acute waterlooptest	Rokxidi F			
72 uur	72 uur	30 minuten	30 minuten	48 uur	24 uur			
µg/l	µg/l	µg/l	µg/l	µg/l	µg/l			
<i>Scenedesmus, Selenastrum, Chlorella</i>	<i>Scenedesmus, Selenastrum, Chlorella</i>	<i>P. phosphoreum</i>	<i>P. phosphoreum</i>	<i>D. magna, Daphnia sp.</i>	<i>B. calviflorus</i>			
Niet alle waarden zijn afkomstig van testen met eenzelfde organisme en/of tijdsduur, deze waarden zijn indicatief								
4. Organofosfor bestrijdingsmiddelen								
Azinfos-ethyl	1800	Algen, 96u NOEC [377]		3.2				
Azinfos-methyl	3600	Algen, 96u EC50 [148]		0.18				
Bromofos-ethyl	230	Algen, 96u EC50 [377]		8.6				
Chloorfenvinfos	1600	Algen, 96u EC50 [51]		0.1				
Chloopyrifos			46300	5 min EC50 [5]	110			
Cumafos				0.1				
Demeton(-S-methylsulfon)	29900	Algen, 96u EC50 [148]		35400				
Diazinon	17300	Algen, 96u EC50 [148]	1700	5 min EC50 [5]	0.522		29200	
Dichloorvos	52800	Algen, 96u EC50 [148]		0.028				
Dimethoaat	290000	Chlorella, 24u EC50 [377]		2500				
(Omethoat; metaboliet Dimethoat)	125000	Algen, 96u EC50 [51]		21				
Disulfoton	28300	Algen, 96u EC50 [377]		0.4				
Ethopofos	28300	Algen, 96u EC50 [377]		50				
Etrinfos	2900	Algen, 96u EC50 [377]		3.7				
Fenitrothion	3900	Algen, 96u EC50 [148]		1.6			6600	
Fenion				0.8				
Foxim								
Heptofos	35000	Scenedesmus, 72u EC50 [140]		2				
Malathion	10000	Arabaena, 5d NOEC [140]	3000	5 min EC50 [5]	0.098			33700
Mevinfos	50	Algen, 96u NOEC [377]		0.18				
Oxydemeton-methyl	100000	Algen, 96u NOEC [377]		3.3				
Parathion (methyl + ethyl)			8500	5 min EC50 [5]	0.2		29100	
Parathion-ethyl	195	Scenedesmus, 8d NOEC [140]		0.028				
Parathion-methyl			220		0.14			
Propethamfos								
Pyrazofos	65500	Scenedesmus, 72u EC50 [140]		0.18				
Thiometon	12800	Algen, 96u EC50 [51]		8200				
Tolclofos-methyl	> 5600	Scenedesmus, 4d EC50 [140]		19900				
Tiazofos	1430	Scenedesmus, 96u EC50 [140]		3				
Trichofoon	> 10000	Algen, 96u EC50 [51]		0.08				47000



Bijlage 'stoffeninformatie'

Gevoeligheid voor specifieke stoffen							
1	Acute algentest	<i>Scenedesmus</i> , <i>Selastrium</i> , <i>Chlorella</i>					
6	Microtox / Lumistox	<i>P. phosphoreum</i>					
16	Acute waterlooptest	<i>D. magna</i> , <i>Daphnia</i> sp.					
12	Rotolift F	<i>B. calyciflorus</i>					
Niet alle waarden zijn afhankelijk van testen met eenzelfde organisme en/of tijdsduur, deze waarden zijn indicatief							
<b>5. Chloorbenzenen</b>							
< 30	Hexachloorbenzenen	Selenastrum, 96u EC50gr [10, Calamar, 1983]	16	48u EC50 [AT]			
990	Monochloorbenzenen		120	D magna, 48u LC50 [382]			
1460	Dichloorbenzenen (1,3 of meta)		720	D magna, 48u LC50 [382]			
17800	Pentachloorbenzenen		300				
11100	Nitrobenzenen		27000				
<b>6. Fenoltheriëden</b>							
7400	Dinoterb	Alg, 96u EC50 [148]	1800	crustaceae, 96u LC50 [373]			
1427	DNOC (4,6-Dinitro-o-cresol)	S. acutus, 24u EC50 [379]	145	D pulcr, 48u LC50 [373]			
<b>7. Carbanaten</b>							
17000	Aldicarb		51	D magna, 48u EC50 [140]			
44000	Aldicarb sulfon		250	D magna, 48u EC50 [140]			
59000	Aldicarb sulfoxide		43	D magna, 48u EC50 [140]			
1400	Benomyl	Chlorella, 48u EC50 [376]	640	D magna, 48u LC50 [376]			
340	Carbendazim	Chlorella, 48u EC50 [10]	460	D magna, 48u LC50 [376]			
3200	Carbofuran	Goene alg, 96u NOEC [376]	23	D magna, 48u EC50 [376]			
684	Chloproflam	S. acutus, 24u EC50 [379]	4100	Crustaceae, 96u LC50 [376]			
	Methiocarb (Methomyl)		8.8				
3000	Oxamyl	Alg, 96u EC50 [148]	420	D magna, 48u EC50 [376]			
140000	Permetharb	Algae, 96u EC50 [376]	14	Kreeftachtigen, 48u LC50 [51]			
5300	Propoxur	Alg, 96u EC50 [148]	11	Kreeftachtigen, 48u LC50 [51]			
<b>8. Dithiocarbamaten</b>							
3200	Maneb	Algae, 96u EC50 [375]	130	30 mm EC50 [5]			
1000	Thiram	Chlorella, 96u EC50 [375]	0.06	Crustaceae, 24u LC50 [376]			
1800	Zincb	Chlorella, 96u EC50 [375]	970	D magna, 48u LC50 [375]			

Gerechtigd voor specifieke stoffen	1	1	6	6	16	16	12	12
Acute algenlest	72 uur	72 uur	30 minuten	30 minuten	48 uur	48 uur	24 uur	24 uur
	µg/l	µg/l	µg/l	µg/l	µg/l	µg/l	µg/l	µg/l
	EC50	EC20	EC50	EC50	EC50	EC50	LC50	LC50
	Scenedesmus, Selenastrum, Chlorella	Scenedesmus, Selenastrum, Chlorella	F. phosporum	F. phosporum	D. magna, Daphnia sp.	D. magna, Daphnia sp.	B. calyciflorus	B. calyciflorus
Niet alle waarden zijn afkomstig van testen met eenzelfde organisme en/of tijdsduur, deze waarden zijn indicatief								
9. C-hloorphenoxycarbonzuur herbicid	2,4,5-T	51700	5 min EC50 [5]	51700	5 min EC50 [5]	51700	5 min EC50 [5]	51700
	2,4,5-Trichloorenoyl (-TP)	1190	5 min EC50 [5]	1190	5 min EC50 [5]	1190	5 min EC50 [5]	1190
	2,4-Dichloortrietyl (-DB)							
	2,4-Dichloorenoxyazijnzuur (2,4-D)	25000	algen, 96u EC50 [148]	25000	algen, 96u EC50 [148]	25000	algen, 96u EC50 [148]	25000
	Dichloorprop (2,4-DP)	220000	algen, 96u EC50 [148]	220000	algen, 96u EC50 [148]	220000	algen, 96u EC50 [148]	220000
	MCPA	56000	algen, 96u NOEC [51]	56000	algen, 96u NOEC [51]	56000	algen, 96u NOEC [51]	56000
	MCPB							
	Mecoprop (MCP)	220000	algen, 96u EC50 [148]	220000	algen, 96u EC50 [148]	220000	algen, 96u EC50 [148]	220000
10. Organodivertbindingen	Fentin (Trifenyliinnacetaat)	2	algen, 192u IC50 [51]	2	algen, 192u IC50 [51]	2	algen, 192u IC50 [51]	2
	Trifenyliinnhydroxide (Fentinihydroxide)	2	algen, 192u IC50 [51]	2	algen, 192u IC50 [51]	2	algen, 192u IC50 [51]	2
	Tributyliinnoxide (TBT)			1.1	30 min EC50 [5]			
11. Triazinonen	Atrazine	32	S. acutus, 24u EC50 [379]	20000	15 min EC50 [381]	240	D. pulex, 48u EC50 [374]	240
	Atrazine (veld)	< 50	Scenedesmus, 96u NOEC [140]	238330	5 min EC50 [5]	1000	D. magna, 48u EC50 [140]	1000
	Simazine	2.7	Selenastrum, 96u EC50 [381]	13000	15 min EC50 [381]	1400	D. magna, 48u LC50 [374]	1400
	Terbutryn	19	Algae, 7u EC50 [374]	> 5000		> 5000	D. magna, 48u EC50 [374]	> 5000
12. Aniliden	Furaxyl	102000	Scenedesmus, 72u EC50 [140]	39000	D. magna, 48u EC50 [140]	39000	D. magna, 48u EC50 [140]	39000
	Propachloor	21	algen, 96u EC50 [51]	7800	kreeftachtigen, 48u LC50 [51]	7800	kreeftachtigen, 48u LC50 [51]	7800



Bijlage 'stoffeninformatie'

	1	1	6	6	16	16	12	12
Gevoeligheid voor specifieke stoffen	Acute algentest	Microtox / Lumistox	Acute watervlooiëntest	Rotoklit F				
	EC50 72 uur µg/l	EC20 30 minuten µg/l	EC50 48 uur µg/l	LC50 24 uur µg/l				
	<i>Scenedesmus</i> , <i>Selenastrum</i> , <i>Chlorella</i>	<i>P. phosphoreum</i>	<i>D. magna</i> , <i>Daphnia sp.</i>	<i>B. calyciflorus</i>				
	Niet alle waarden zijn afkomstig van testen met eenzelfde organisme en/of tijdsduur, deze waarden zijn indicatief							
<b>13. Feny lureum herbiciden</b>								
Alachloor	119	S. acutus, 24u EC50 [379]	10000	135000	10000	10000	10000	10000
Chloortoluron	38	S. acutus, 24u EC50 [379]	> 70		> 70			
Duuron	13	S. acutus, 24u EC50 [379]	1400	2200	1400	1400	1400	1400
Isoproturon	3.2	algem, 72u NOEC [51]	240000		240000	240000	240000	240000
Isoproturon (veld)								
Limuron	10	algem, 96u NOEC [51]	750	2200	750	750	750	750
Methabenzthiazuron	42	algem, 96u EC50 [51]	2700		2700	2700	2700	2700
Metobromuron	260	algem, 120u EC50 [51]	44100		44100	44100	44100	44100
Metoxuron	64	algem, 96u EC50 [51]	216000		216000	216000	216000	216000
Monolinuron	1	algem, 96u EC50 [51]	32000		32000	32000	32000	32000
Monuron				228670	5 min EC50 [5]			
Monuron (veld)								
<b>14. Carboximiden</b>								
Captan	1000	Nostoc muscorum, 7u NOEC [10]	1300		1300	1300	1300	1300
Vinchlozolin	16000	Chlorella, 96u EC50 [140]	4000		4000	4000	4000	4000

Gevoeligheid voor specifieke stoffen	Acute algentest	Microtox / Lumistox	Acute waterbioleentest	Rotaxit F
1	1	6	16	12
72 uur	72 uur	30 minuten	48 uur	24 uur
EC50	EC50	EC20	EC50	LC50
µg/l	µg/l	µg/l	µg/l	µg/l
<i>Scenedesmus, Selenastrum, Chlorella</i>		<i>F. phosphoreum</i>	<i>D. magna, Daphnia sp.</i>	<i>B. calyciflorus</i>
Niet alle waarden zijn afkomstig van testen met eenzelfde organisme en/of tijdsduur, deze waarden zijn indicatief				
1.5	1.5	11	15	
Anthracen	Selenastrum, 22u EC10gr [380]	30min EC50 [380]	0.2075d LT50* [DA]	
Benzo(b)fluorantheen				
Chryseen			48u LT50 [380]	
Nafaleen	33000	680	15min EC50 [5]	48u EC50 [380]
Benzo(a)anthracen	Chlorella, 48u EC50 [380]	260	30min EC50 [5]	48u EC50 [380]
Benzo(a)pyreen	2.5		Selenastrum, 96u EC50gr [380]	0.185d LT50* [DA]
Benzo(ghi)perylene			0.185d LT50* [DA]	0.2
Benzo(k)fluorantheen			0.5758d LT50* [DA]	1.4
Dibenz(ah)anthracen			0.5421d LT50* [DA]	0.4
Fenantreen	900	210	30min EC50 [380]	48u EC50 [380]
Fluorantheen	54000	470	30min EC50 [380]	0.0417d LC50 [DA]
Indeno(1,2,3-cd)pyreen			0.0417d LC50 [DA]	
Pyreen			0.0417d LC50 [DA]	
16. PCB's				
PCB 28				
PCB 52				
PCB 101				
PCB 118				
PCB 138				
PCB 153				
PCB 180				
som 6 PCB's				
som 7 PCB's				



Bijlage 'stoffeninformatie'

1	1	6	6	16	16	12	12
Gevaarlijkheid voor specifieke stoffen	Scenedesmus, Selenastrum, Chlorella	F. phosphoreum	D. magna, Daphnia sp.	B. calyciflorus			
Acute algentest	72 uur	30 minuten	48 uur	24 uur			
EC50	µg/l	µg/l	µg/l	µg/l			
Microtox / Lumistox			Acute watervlootentest	Rotokid F			
1,2-Dichloorethaan	158000	15 mm EC50 [382]	1430000	D magna, 48u LC50 [382]			
2,4-Dichlooraaniline (2,4-DCA)	3980	5 mm EC50 [5]					
3,4-Dichlooraaniline	446						
Aceton	7000000	Selenastrum, 96u NOEC [383]	22270000	D magna, 48u LC50 [383]	15800000		62000
Ammonia (niet geïoniseerd)	7689	S acutus, 24u EC50 [379]	1500	D magna, 48u LC50 [382]	800		4600
Beniazon	< 0.1	algem, 96u EC50 [148]	64000	Kroefachtigen, 48u LC50 [51]			
Chloorthalonil	510	15 mm EC50 [382]	<770	D magna, 48u LC50 [382]			
Cyanide (K <sub>2</sub> Cn)	2800	5 mm EC50 [382]	80	D magna, 48u LC50 [382]			
Ditiquat	11	Algem, 96u EC50 [51]					
Deltamethrin	1000000	15 mm EC50 [5]	0.038	D magna, 48u LC50 [140]			
Dichloormethaan	10400	15 mm EC20 [5]	7000	D magna, 48u LC50 [382]		1200000	
Fenol							
Hypochooride (NaOCl)	100	15 mm EC50 [5]					
Isophoron							
LAS (Linear alkyl benzene sulfonate)	6100	30 mm EC50 [5]					
2,4-Dinitrofenol (Tab)							
2,4-Dinitrofenol (vld)							
Mincrate olie (gedispergeerd)	9336	S acutus, 24u EC50 [379]	780000	5 mm EC50 [5]	4000		
Parquat	12.5	Algem, 96u EC50 [51]	560	5 mm EC50 [5]	0.2		
Pernethryn	46	S acutus, 24u EC50 [379]			18900		
Prometryn	730	Algem, 120u NOEC [51]			180		
Pyrazon (Chordazon)							
Tetrachloorethaan	5370	5 mm EC50 [5]					
Tetrachloorethyleen	4180	5 mm EC20 [5]					
Tetraclormethaan	5600	5 mm EC50 [5]					
Toluene	17000	5 mm EC50 [5]	15000	D magna, 48u LC50 [382]			
Trichloorethyleen	42750	5 mm EC20 [5]	94000	D magna, 48u LC50 [383]			
Trichloormethaan (Chloroform)	429000	5 mm EC20 [5]	758000	D magna, 48u LC50 [382]			
Xyleen	16000	5 mm EC50 [5]					

Niet alle waarden zijn afkomstig van testen met dezelfde organisme en/of tijdsduur, deze waarden zijn indicatief

### **Bijlage 13.**

#### Stoffeninformatie 3: Overzicht van de veldbioassays

NB: De weergegeven data voor de kroostest zijn vrijwel allemaal afkomstig van lab-bioassays en moeten derhalve als indicatief worden gezien. Voor de watervlooiën veldbioassay zijn géén specifieke waarden gevonden. Hiervoor kan indicatief gebruik gemaakt worden van de waarden voor de acute watervlooiëntest. Ook voor veldbioassay met muggelarven zijn géén specifieke veldwaarden gevonden. De meeste waarden die zijn gevonden zijn afkomstig van lab-bioassays met diverse soorten muggelarven (*Chironomus*, *Culex* en *Aedes*) en, bij gebrek aan betere data, ook van andere water(bodem)insecten (hoofdzakelijk *Pteronarcys californica* en *Cloeon dipterum*). Om deze redenen moeten ook voor deze assay de weergegeven waarden als indicatief worden gezien.

#### Referenties:

- [10] Murphy, S. R. & Balogh, J.C. (1993). DATATOX V2.0. Toxicity & Chemical fate, Personal computer system. Spectrum Research, Inc., Duluth, Minnesota, April 1993.
- [140] Luttkik, R., Baumann, R.A., & van der Wal, B. (1991). Bestrijdingsmiddelen in oppervlaktewater van het Westland (1989/90). Rapport nr: 711001007. Rijksinstituut voor Volksgezondheid en Milieuhygiëne RIVM, Bilthoven: 88 p.
- [373] Ordelman, H.G.K., van Noort, P.C.M., van Steenwijk, J.M., Beurskens, J.E.M., Faasen, R., Beek, M.A., and Evers, E.H.G. (1994). Watersysteemverkenningen 1996. Een analyse van de problematiek in aquatisch milieu. Fenolherbiciden. Dinoseb, Dinoterb, DNOC, Lelystad, RIZA, 1994.p. 98
- [374] Ordelman, H.G.K., van Noort, P.C.M., van Steenwijk, J.M., ten Hulscher, T.E.M., and Evers, H.G. (1993). Watersysteemverkenningen 1996. Een analyse van de problematiek in aquatisch milieu. Triazinen. Anilazen, atrazin, cyanazin, cyromazin, desmetryn, prometryn, propazin, simazin, terbutryn, terbutylazin, Lelystad, RIZA, 1993.p. 138
- [375] Ordelman, H.G.K., van Noort, P.C.M., van Steenwijk, J.M., ten Hulscher, T.E.M., Beek, M.A., Botterweg, J., Faasen, R., Frintrop, P.C.M., and Evers, H.G. (1993). Watersysteemverkenningen 1996. Een analyse van de problematiek in aquatisch milieu. Dithiocarbomaten. Mancozeb, maneb, metam-natrium, metiram, natrium- dimethyldithiocarbamaat, thiram, tri-allaat, zineb, ziram, Lelystad, RIZA, 1993.p. 119
- [376] Ordelman, H.G.K., Stortelder, P.B.M., ten Hulscher, T.E.M., Wagemaker, F.H., van Steenwijk, J.M., Botterweg, J., Frintrop, P.C.M., and Evers, H.G. (1993). Watersysteemverkenningen 1996. Een analyse van de problematiek in aquatisch milieu. Carbamaten, Lelystad, RIZA, 1993.p. 137
- [377] Ordelman, H.G.K., van Noort, P.C.M., Hulscher, T.E.M.t., Beek, M.A., van Steenwijk, J.M., Frintrop, P.C.M., and Evers, E.H.G (1994). Watersysteemverkenningen 1996 Organofosforbestrijdingsmiddelen, een analyse van de problematiek in aquatisch milieu, Lelystad, RIZA, 1994.p. 186
- [378] Retzlaff, G., 1993. Growth rate determination of *Lemna* by video scan of the leaf surface area. In: Target assays for modern herbicides and related phytotoxic compounds. Eds.: Böger, P. & Sandmann. Lewis publishers. Chapter 34: 251-256
- [379] Grossmann, K., Berghaus, R. & Retzlaff, G. (1992). Heterotrophic cell suspension cultures for monitoring biological activity in agrochemical research. Comparison with screens using algae, germinating seeds and whole plants. Pestic. Sci. 35: 283-289.
- [380] Kalf, D.F, Crommentuijn, G.H., Posthumus, R. & van de Plassche, E.J. (1995). Integrated environmental quality objectives for polycyclic aromatic hydrocarbons (PAH's). RIVM report no. 679101018. December 1995.
- [383] Sloof, W. (1983). Biological effects of chemical pollutants in the aquatic environment and their indicative value. PhD Thesis, April 1983



- [401] Ingersoll, C.G., Ankley, G.T., Benoit, D.A., Brunson, E.L., Burton, G.A., Dwyer, F.J., Hoke, R.A., Landrum, P.F., Norberg-King, T.J. & Winger, P.V., 1995. Toxicity and bioaccumulation of sediment-associated contaminants using freshwater invertebrates: a review of methods and applications. *Environmental Toxicology and Chemistry*, Vol. 14, N0. 11, pp. 1885-1894.

[DA] = Datatox = [10]

PS: Toxiciteitwaarden waarachter geen bijzonderheden zijn vermeld zijn overgenomen uit een van de bronnen zoals vermeld in de referentielijst bij de beschrijving van de technieken in bijlage 5, 6 of 7 (zie inventarisatierapport: STOWA, 1997).





Geveelighed voor specifieke stoffen	5	5	18	18	23	23
Kroostest	14 dagen	14 dagen	1 week	1 week	1 week	1 week
ECSO	µg/l	µg/l	µg/l	µg/l	µg/l	µg/l
bedekingsgraad gevoeliger dan delingsnelheid	<i>Lemna minor, Lemna gibba, Spirodela polyrrhiza</i>	<i>Lemna minor, Lemna gibba, Spirodela polyrrhiza</i>	<i>Daphnia magna</i>	<i>Daphnia magna</i>	<i>Chaoborus crystallinus</i>	<i>Chaoborus crystallinus</i>
Niet alle waarden zijn afhankelijk van testen met eenzelfde organisme en/of tijdsduur, deze waarden zijn indicatief						
2. Organochloor bestrijdingsmiddelen						
Aldrin						
alfa-HCH						
beta-HCH						
Chloordaan						
DDD						
DDE						
DDT						
Dichloorpropan (1,2-)						
Dichloorpropan (1,3-)						
Dieldrin						
Endosulfan (alfa + sulfaat)						
Endosulfan (alfa)						
Endosulfan (alfa) (veld)						
Endosulfan (beta)						
Endrin						
HCH-verbindingen						
Heptachloor						
Heptachlooroxide						
Hexachloorbutadieen						
Hexachloorcyclohexaan						
Lindaan (gamma-HCH)						
Trichlooretheen						
VOX						
3. Chloorfenolen						
3,5-Dichloorfenol						
Monochloorfenolen						
Natriumpentachloorfenolaat (Na-PCP)						
Natriumpentachloorfenolaat (Na-PCP) (						
Pentachloorfenol (PCP)						
	1000	<i>Lemna minor, 74 NOEC [383]</i>			110	<i>Chironomus</i> gr. <i>thummi</i> , 48u LC50 [383]





Geveeligheid voor specifieke stoffen	5	5	18	18	23	23
Kroostest	14 dagen	14 dagen	1 week	1 week	1 week	1 week
EC50	µg/l	µg/l	µg/l	µg/l	µg/l	µg/l
bedekkinggraad gevoeliger dan deingsnelheid	<i>Lemna minor</i> , <i>Lemna gibba</i> , <i>Spirodela polyrrhiza</i>	<i>Daphnia magna</i>	<i>Chaoborus crystallinus</i>			
Niet alle waarden zijn afkomstig van testen met eenzelfde organisme en/of tijdsduur, deze waarden zijn indicatief						
<b>5. Chloorbenzenen</b>						
Hexachloorbenzenen						
Monochloorbenzenen						
Dichloorbenzenen (1,3 of meta)						
Pentachloorbenzenen						
Nitrobenzenen						
<b>6. Fenoltheriden</b>						
Dinoterb						
DNOC (4,6-Dinitro-o-cresol)	109	<i>Lemna paucocostata</i> , <i>S4 EC50 [379]</i>	66	<i>Pteronarcyx eadiformis</i> , <i>96a LC50 [373]</i>		
<b>7. Carbaaten</b>						
Aldicarb	17	<i>C. shuntensis</i> , <i>24a LC50 [376]</i>				
Aldicarb sulfon						
Aldicarb sulfioxide						
Benomyl	7000	<i>C. phimosus</i> , <i>48a EC50 [376]</i>				
Carbendazim						
Carbofuran	748	<i>Lemna paucocostata</i> , <i>S4 EC50 [379]</i>	56	<i>C. riparius</i> , <i>48a EC50 [376]</i>		
Chloproflam						
Methiocarb (Alefthomyl)						
Oxamyl						
Primicarb						
Tropoxur			13	<i>Pteronarcyx eadiformis</i> , <i>96a LC50 [376]</i>		
<b>8. Dithiocarbmaaten</b>						
Maneb	> 4900	<i>Culex restuans</i> , <i>18a LC50 [375]</i>				
MITC (omzettingproduct Metam-Na)	7800	<i>Aedes aegypti</i> , <i>24a LC50 [375]</i>	390	<i>Chloen diprioni</i> , <i>96a LC50 [375]</i>		
Thiram						
Znecb						





Bijlage 'stofleninformatie'

Gevoeligheid voor specifieke stoffen	5	5	18	18	23	23
	Kroostest		Watersloot veld bioassay		Muggelarve veld bioassay	
	EC50		1 week		EC	
	14 dagen		µg/l		1 week	
	µg/l		<i>Daphnia magna</i>		µg/l	
	bedekingsgraad gevoeliger dan delingsnelheid		<i>Daphnia magna</i>		<i>Chironomus cristallinus</i>	
	<i>Lemna minor</i> , <i>Lemna gibba</i> , <i>Spirodela polyrrhiza</i>					
	Niet alle waarden zijn afkomstig van testen met eenzelfde organisme en/of tijdsduur, deze waarden zijn indicatief					
<b>13. Fenylureum herbiciden</b>						
Alachloor	9	<i>Lemna paucicostata</i> , 81 EC50 [379]				
Chloortoluron	9	<i>Lemna paucicostata</i> , 81 EC50 [379]				
Diuron	11	<i>Lemna paucicostata</i> , 81 EC50 [379]			1200	<i>Aedes aegypti</i> , 96u LC50 [10]
Isoproturon						
Isoproturon (veld)						
Linuron						
Meflufenziazuron	29	<i>Lemna paucicostata</i> , 10d EC50 [378]				
Metobromuron						
Metoxuron						
Mometuron						
Mometuron (veld)						
<b>14. Carboxaniliden</b>						
Captan					1500	<i>Cloen apterum (mayfly)</i> , 48u LC50 [10]
Vinchlozolin						

Gerechtigheid voor specifieke stoffen	5	5	18	18	23	23
Kroostest	EC50	14 dagen	µg/l	1 week	1 week	µg/l
Lemna minor, Lemna gibba, Spizodeia polyrrhiza	bedekkinggraad gevoeliger dan delingsnelheid			<i>Daphnia magna</i>	<i>Cloaborus crystallinus</i>	
Niet alle waarden zijn afkomstig van testen met eenzelfde organisme en/of tijdsduur, deze waarden zijn indicatief						
15. PAK's	Anthracen	Benzo(b)fluorantheen	Chryseen	Nafthalen	Benzo(a)anthracen	Benzo(a)pyreen



Bijlage 'stoffeninformatie'

Gevoeligheid voor specifieke stoffen	5	5	18	18	23	23
	Kroostest EC50 14 dagen µg/l		Watervloolen veldbioassay 1 week µg/l		Muggetlarve veldbioassay EC 1 week µg/l	
	bedekkingsgraad gevoeliger dan delingsnelheid <i>Lemna minor</i> , <i>Lemna gibba</i> , <i>Spirodela polytricha</i>		<i>Daphnia magna</i>		<i>Chaoborus crystallinus</i>	
<b>17. Diversen</b>	Niet alle waarden zijn afkomstig van testen met eenzelfde organisme en/of tijdsduur, deze waarden zijn indicatief					
1,2-Dichloorethaan	1000	<i>Lemna minor</i> , 7d NOEC [383]				
2,4-Dichlooraniline (2,4-DCA)						
3,4-Dichlooraniline						
Aceton					13000000	<i>Charonimus gr. thummi</i> , 48h LC50 [383]
Ammonia (niet geïoniseerd)	1033	<i>Lemna paucicostata</i> , 8d EC50 [379]				
Bentazon						
Chloorthaloniol						
Chloorfenol (ortho of 2)						
Cyanide (KCN)						
Desiquat					0.29	<i>C. utahensis</i> , 24h LC50 [140]
Deltamethrin						
Dichloormethaan						
Fenol						
Hypochloride (NaOCl)						
Isophoron						
LAS (Linear alkyl benzene sulfonate)						
2,4-Dinitrofenol (lab)						
2,4-Dinitrofenol (veld)						
Minerale olie (gedispergeerd)	11	<i>Lemna paucicostata</i> , 8d EC50 [379]				
Paraquat						
Permethrin	41	<i>Lemna paucicostata</i> , 8d EC50 [379]			0.56	<i>C. plumosus</i> , 48h EC50 [140]
Prometryn	4876	<i>Lemna paucicostata</i> , 10d EC50 [378]				
Pyrazon (Chloridazon)						
Tetrachloorethaan						
Tetrachloorethyleen						
Tetrachloormethaan						
Toluene						
Trichloorethyleen						
Trichloormethaan (Chloroform)					64000	<i>Charonimus gr. thummi</i> , 48h LC50 [383]
Xyleen						

## **Bijlage 14.**

### Stoffeninformatie 4: Overzicht van de biologische bewakingssystemen

NB: De weergegeven data voor de (niet geselecteerde) vismonitor (Aqua-Tox-Control) zijn vrijwel allemaal afkomstig van lab-bioassays en moeten derhalve als indicatief worden gezien.

### **Referenties** (zie de literatuurlijst voor de volledige referenties):

- [1] Delta Consult, 1991. Mosselmonitor (produkt-informatiemap).
  - [12] Bund/Länder-Projektgruppe "Wirkungstests Rhein" (WIR), 1995. Kontinuierliche Biotestverfahren zur Überwachung des Rheins. ISBN 3-503-03690-3. Umweltbundesamt, Berlin: 289 p.
  - [51] Rijn, J.P. van, Straalen, N.M. van, & Willems, J. (1992). Handboek bestrijdingsmiddelen. Gebruik en milieu-effecten. VU Uitgeverij, Amsterdam: 153 p.
  - [140] Luttk, R., Baumann, R.A., & van der Wal, B. (1991). Bestrijdingsmiddelen in oppervlaktewater van het Westland (1989/90). Rapport nr: 711001007. Rijksinstituut voor Volksgezondheid en Milieuhygiene RIVM, Bilthoven: 88 p.
  - [148] Linders, J.B.H.J., Jansma, J.W., Mensink, B.J.W.G., & Otermann, K. (1994). Pesticides: Benefaction or pandora's box? A synopsis of the environmental aspects of 243 pesticides. Report no. 679101014. Rijksinstituut voor Volksgezondheid en Milieuhygiene RIVM, Bilthoven: 204 p.
  - [375] Ordelman, H.G.K., van Noort, P.C.M., van Steenwijk, J.M., ten Hulscher, T.E.M., Beek, M.A., Botterweg, J., Faasen, R., Frintrop, P.C.M., and Evers, H.G. (1993). Watersysteemverkenningen 1996. Een analyse van de problematiek in aquatisch milieu. Dithiocarbomaten. Mancozeb, maneb, metam-natrium, metiram, natrium- dimethyldithiocarbamaat, thiram, tri-allaat, zineb, ziram, Lelystad, RIZA, 1993.p. 119
  - [376] Ordelman, H.G.K., Stortelder, P.B.M., ten Hulscher, T.E.M., Wagemaker, F.H., van Steenwijk, J.M., Botterweg, J., Frintrop, P.C.M., and Evers, H.G. (1993). Watersysteemverkenningen 1996. Een analyse van de problematiek in aquatisch milieu. Carbamaten, Lelystad, RIZA, 1993.p. 137
  - [377] Ordelman, H.G.K., van Noort, P.C.M., Hulscher, T.E.M.t., Beek, M.A., van Steenwijk, J.M., Frintrop, P.C.M., and Evers, E.H.G (1994). Watersysteemverkenningen 1996 Organofosforbestrijdingsmiddelen, een analyse van de problematiek in aquatisch milieu, Lelystad, RIZA, 1994.p. 186
  - [380] Kalf, D.F, Crommentuijn, G.H., Posthumus, R. & van de Plassche, E.J. (1995). Integrated environmental quality objectives for polycyclic aromatic hydrocarbons (PAH's). RIVM report no. 679101018. December 1995.
  - [382] Munkittrick, K.R., Power, E.A. & Sergy, G.A. (1991). The relative sensitivity of Microtox, Daphnid, Rainbow Trout, and Fathead Minnow Acute Lethality Tests. Environmental Toxicology and Water Quality, Vol. 6, 35-62
  - [383] Sloof, W. (1983). Biological effects of chemical pollutants in the aquatic environment and their indicative value. PhD Thesis, April 1983
- PS: Toxiciteitwaarden waarachter geen bijzonderheden zijn vermeld zijn overgenomen uit een van de bronnen zoals vermeld in de referentielijst bij de beschrijving van de technieken in bijlage 8, 9 of 10 (zie inventarisatierapport: STOWA, 1997).









Bijlage 'stoffeninformatie'

Gevoeligheid voor specifieke stoffen	3	20	20	25a	28	28
	DF-Algentest EC10 30 minuten µg/l	Dynamische Daphniatest detectielimiet 30 minuten µg/l	Mosselmonitor (zoet) detectielimiet (dl) 30 minuten µg/l	Aqua-Tox-Control (Leuciscus) LOEC 30 minuten µg/l		
	<i>S. subspicatus</i> , <i>M. aeruginosa</i>	<i>Daphnia magna</i>	<i>Dreissena polymorpha</i> , <i>Unio pictorum</i>	<i>Leuciscus idus melanotus</i>		
Niet alle waarden zijn afkomstig van testen met eenzelfde organisme en/of tijdsduur, deze waarden zijn indicatief						
<b>4. Organofosfor bestrijdingsmiddelen</b>						
Azinfos-ethyl					< 0,3	Esox lucius, 96u EC50 [377]
Azinfos-methyl					180	Vissen, 96u LC50 [377]
Bromofos-ethyl					23	Lepomis macrochirus, 96u LC50 [377]
Chloorfenvinfos					3	Vissen, 96u LC50 [51]
Chloorpyrifos			50	Dreissena, detectielimiet-bleefbeweging [1]		
Cholinesterase remming						
Cumafos					54600	vissen, 96u LC50 [51]
Demeton(-S-methylsulfon)					1,7	Salmo clarki, 96u LC50 [377]
Diazinon		8			170	laagste diverse soorten, 96u LC50 [140]
Dichloorvos					30000	Vissen, 96u LC50 [51]
Dimethoaat					8800	Vissen, 96u LC50 [51]
(Omethoaat; metaboliet Dimethoaat)		100				
Disulfoton					270	Vissen, 96u LC50 [51]
Ethoprofos					100	Vissen, 96u LC50 [51]
Etrinifos		4			2000	Vissen, 96u LC50 [51]
Fenitrothion						
Fenitron						
Foxim					9300	laagste van 3 soorten, 96u LC50 [140]
Heptenofos					4,1	Salmo gairdneri, 48u LC50 [377]
Malathion					11,9	laagste diverse soorten, 96u LC50 [140]
Mevinfos					4000	Salmo gairdneri, 96u LC50 [377]
Oxydemethon-methyl		5				
Parathion (methyl + ethyl)					17,8	Micropterus salmoides, 96u LC50 [377]
Parathion-ethyl		5			9400	Vissen, 96u LC50 [51]
Parathion-methyl		100				
Propethamfos					16	laagste diverse soorten, 96u LC50 [140]
Pyrazofos		400			8000	Vissen, 96u LC50 [51]
Thiometon					790	laagste diverse soorten, 96u LC50 [140]
Tolclofos-methyl					180	Cyprinus carpio, 48u LC50 [140]
Triazofos					72	Salmo gairdneri, 72u LC50 [377]
Trichloorfon						













Gevoeligheid voor specifieke stoffen	3	3	20	20	25a	25a	28	28
DF-Algenrest	30 minuten	EC10	Dynamische Daphnabtest	deceblimiet	30 minuten	deceblimiet (dl)	30 minuten	Aqua-Tox-Control (Leuciscus)
S. subspicatus, M. aeruginosa	µg/l		Daphnia magna		µg/l	Dreissena polymorpha, Unio pictorum	µg/l	Leuciscus idus melanotus
17. Diversen								
1,2-Dichloorethaan	100	198000	Ranbow trout, 96u LC50 [382]					
2,4-Dichlooraaniline (2,4-DC/A)	3600	198000	Ranbow trout, 96u LC50 [382]					
3,4-Dichlooraaniline	3600	9880000	Leuciscus, 48u LC50 [383]					
Aceton								
Ammonia (niet getoimiseerd)								
Benzon								
Chloorthaloni								
Chlooreenol (ortho of 2)	20000							
Cyande (K <sub>2</sub> Cn)								
Dequat								
Delamethin								
Dichloorethaan								
Fenol	1000	14600	Dreissena, deceblimiet-klopbevegging [383]	5000	Ranbow trout, 96u LC50 [382]			
Hypochloride (NaOCl)								
Isophoron								
LAS (Linear alkyl benzeene sulfonate)	480							
2,4-Dihitrofenol (lab)	160							
2,4-Dihitrofenol (vld)								
Minerale olie (gedispergeerd)								
Parquat								
Permethin								
Prometyn								
Pyrazon (Chloridazon)								
Tetraclhoorethaan								
Tetraclhoorethyleen								
Tetraclhoorethaan								
Toluoen								
Trichloorethyleen								
Trichloormethaan (Chloroform)								
Xyleen								



## Bijlage 15.

### **FLUOROMETPLATE-BIOASSAY (LAB-BIOASSAY)**

#### **A. Algemeen principe:**

De FluoroMetPLATE-test (lab-bioassay) wordt uitgevoerd met bacteriesoort *Escherichia coli* volgens het bij deze testkit bijgeleverde protocol (Group 206, 1996). Het principe van deze test is dat toxische stoffen (met name zware metalen) de enzymsynthese ( $\beta$ -Galactosidase) remmen. Voor de test wordt een verdunningsreeks van het oppervlaktewater aangemaakt met het in de testkit bijgeleverde standaard verdunningsmedium, waarna een suspensie van *E. coli*, wordt toegevoegd. Na 1,5 uur incubatie bij 35 °C wordt fluorogeensubstraat toegevoegd aan iedere replica en wordt wederom 2 uur geïncubeerd. Bij aanwezigheid van enzym  $\beta$ -Galactosidase wordt het fluorescerende marker van het substraat gesplitst. De mate van fluorescentie wordt gemeten met behulp van een fluorometer. De analyses worden in drievoud uitgevoerd, waarna de EC<sub>50</sub>-waarde wordt bepaald. De EC<sub>50</sub>-waarde (Effect Concentratie) is gedefinieerd als de concentratie oppervlaktewater, waarbij na een gegeven blootstellingsduur een afname van 50% van de fluorescentie ten opzichte van de blanco (= verdunningsmedium + bacteriesuspensie) kan worden waargenomen.

#### **B. Bijzonderheden t.a.v. de uitvoering binnen dit project:**

Binnen het STOWA-project is deze test uitgevoerd volgens een gemodificeerde versie van de bij deze testkit bijgevoegde richtlijn (Group 206, 1996). Deze wijziging houdt in dat in plaats van een verdunningsreeks met 3 replica's per testconcentratie uitsluitend 6 replica's van het *onverdunde* oppervlaktewater zijn beoordeeld. Na totaal 3,5 uur blootstelling is in iedere replica de fluorescentie gemeten. Tenslotte is met behulp van de parametrische 'Bonferroni'-test uit het statistische software pakket SPSS (Norusis, 1992) getoetst of er ten opzichte van de referentie significante verschillen in fluorescentie-waarnemingen zijn. Hiervoor is echter wel eerst getoetst of voldaan werd aan de eisen t.a.v. normaliteit en homogeniteit van varianties.

#### **C. Randvoorwaarden:**

Er zijn voor deze test nog géén randvoorwaarden voor fysisch-chemische parameters waarbij géén acute effecten worden verwacht bij *E. coli*. Volgens G. Watts (directeur Group 206) wordt, met uitzondering van de pH, de performance van deze test echter niet beïnvloed door deze parameters (saliniteit, zuurstofgehalte e.a.). De pH van de monsters dient met NaOH en/of HCl op 6 te worden gesteld indien deze lager is dan 5,0 of hoger dan 7,5 (Group 206, 1996).

#### **D. Geldigheidscriteria:**

De volgende geldigheidscriteria zijn van toepassing bij het testen van verdunde en onverdunde watermonsters:

- In de blanco (negatieve controle) moet fluorescentie kunnen worden gemeten aan het einde van de test;
- In de positieve controle (bevat CuSO<sub>4</sub>) moet de fluorescentie aan het einde van de test nihil zijn.

**E. Beoordelingscriteria:**

Nadat gecontroleerd is of de uitgevoerde test aan de geldigheidscriteria voldoet (zie D), kunnen de resultaten van de test worden beoordeeld. Hiertoe wordt met behulp van een geschikte statistische methode (bijv. de parametrische Bonferroni' T-test) getoetst of de fluorescentie in een bepaald oppervlaktewatermonster statistisch significant van de fluorescentie in de referentielocatie verschilt. Hiervoor wordt echter eerst getoetst of voldaan wordt aan de eisen t.a.v. normaliteit en homogeniteit van varianties. Indien hieraan ook na een eventuele transformatie van de waarnemingen niet kan worden voldaan, dan wordt voor het toetsen van verschillen gebruik gemaakt van een niet-parametrische methode (bijv. een rangsomtoets).

Indien de fluorescentie op de te onderzoeken locatie significant lager is dan bij de referentielocatie, wordt geconcludeerd dat het betreffende monster negatieve en dus toxische effecten op de bacterie veroorzaakte.

**F. Toepassingsgebied en periode:**

De FluoroMetPLATE-test kan worden toegepast bij de screening en beoordeling van de toxiciteit van stoffen, waterbodems (via het poriewater en/of elutriaat) en waterige monsters.

Aangezien zowel het materiaal als de testorganismen het gehele jaar door verkrijgbaar zijn en aangezien deze test in het laboratorium, onder gestandaardiseerde omstandigheden wordt uitgevoerd, zijn er geen beperkingen ten aanzien van de periode waarin de test kan worden toegepast.

**G. Gevoeligheid:**

De test is specifiek gevoelig voor zware metalen. De EC50-waarden per metaal zijn weergegeven in het volgende overzicht (Jung *et al.*, 1996):

Metaal:	kwik	koper	chrom	zink	lood	nikkel	cadmium
EC <sub>50</sub> (µg/l):	3,7	12,4	4861	52,1	1868	348	2,9

**H. Ervaring bij waterbeheerders:**

De toepassing van deze test in dit onderzoek is de eerste toepassing van deze techniek in Nederland.

**I. Beschikbaarheid en kosten**

Deze test is sinds kort commercieel beschikbaar via AquaSense BV in Amsterdam. In het volgende schema worden de kosten (uitvoeringstijd en verbruiksmateriaal) geraamd voor het testen van 5 complete verdunningsreeksen (2 replica's per concentratie) en/of het screenen van 5 onverdunde monsters met 6 replica's per monster, waarbij per monster gelijktijdig 5 blancoreplica's worden meegetest.



<b>Kosten</b>					
Verbruiksmateriaal			Uitvoeringstijd*		
Laag ( $< f$ 500)	Middel ( $f$ 500 - $f$ 1000)	Hoog ( $> f$ 1000)	Kort ( $< 1$ dag)	Middel (1 - 3 dagen)	Lang ( $> 3$ dagen)
X			X		

\*: Inclusief voorbereiding, uitvoering, dataverwerking en rapportage

Naast verbruiksmateriaal is voor de uitvoering van deze ook een 'Microplate Fluorometer' met de volgende specificaties nodig: excitatie-golflengte circa 360 nm en emissie-golflengte circa 485 nm.

#### J. Aandachtspunten:

Voor deze test zijn een aantal aandachtspunten van praktische aard geformuleerd:

- In vervolgonderzoek dient deze test verder te worden gevalideerd;
- Verder dienen randvoorwaarden te worden opgesteld.

#### E. Referenties:

(zie de literatuurlijst voor de volledige referenties)

Group 206, 1996; Jung *et al.*, 1996; Norusis, 1992

## **Bijlage 16a.**

Praktijkmonitoring metalen: aanvullende informatie t.a.v. de bemonstering

- Inlaat: Tijdsproportionele monstername met behulp van Epic 1011T. De Epic bevat een vacuümpomp en neemt de watermonsters door middel van onderdruk. De instelling tijdens monstername was 6 maal per uur een hoeveelheid van 50 ml;
- Lozing 1: Volumeproportionele meting en bemonstering met behulp van magnetische flowmeter Actoflux K 480 AS en monstername met Verder Flex 2010;
- Lozing 2: Volumeproportionele meting en bemonstering middels een meetschot Thomson 90° en een E+H (FDV 80 reg 1A) debietmeter en een E+H liqui-box monsternameapparaat;
- Beek: Tijdsproportionele monstername met behulp van PBT. De PBT bevat eveneens een vacuümpomp en neemt de watermonsters eveneens d.m.v. onderdruk. Instelling tijdens monstername was 6 maal per uur een hoeveelheid van 50 ml.



## Bijlage 16b.

### Praktijkmonitoring metalen: chemische analyseresultaten watermonsters

Gemeten gehalten (cursief = 1/2 detectielimiet, dit i.v.m. berekening van TU's)

monster:	inlaat	inlaat	lozing 1	lozing 1	lozing 2	lozing 2	beek	beek	beek
ecolims nr.		15231	15229	15232					
datum monstername:	19/9/96	19/9/96	19/9/96	19/9/96	19/9/96	19/9/96	19/9/96	19/9/96	1/1/94 - 1/4/96
analyses via:	beheerder	AquaSense	beheerder	AquaSense	beheerder	AquaSense	beheerder	AquaSense	beheerder
lab-bioassays uitgevoerd met:		X		X		X		X	
bijzonderheden:									
koper	50.0	48.0	10.0	1.0	10.0	3.5	20.0	13.0	12.0
chromium	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	1.5	0.5	0.5	7.0
zink	130	130	10	14	240	260	200	180	884
lood	10.0	7.0	10.0	2.5	20.0	10.0	10.0	2.5	13.0
cadmium	5.0	0.7	5.0	0.1	5.0	0.5	5.0	1.8	3.7
nikkel	15.0	4.5	15.0	4.5	15.0	4.5	15.0	4.0	15.0
kwik	0.05	0.05	0.05	0.02	0.05	0.05	0.05	0.02	0.10
mangaan	50		2200		90		70		
ijzer	120		300		80		31		
cobalt	2.0		10.0		10.0		2.0		
arsen	4.5		0.5		1.0		2.5		
aluminium	24.0		25.0		25.0		5.0		
antimoon	0.5		0.3		1.0		41.0		
pH	8.1		7.9		7.9		7.9		
BZV5	4		1		1		4		
CZV	41		6		13		29		
nitaat + nitriet	0.1		0.5		0.6		0.2		
Kjedahl-N	1.0		1.0		1.0		1.0		
totaal-P	0.2		0.2		0.1		0.2		
sulfaat (SO4)	50		130		1600		250		
calcium	48		82		740		120		
magnesium	8.2		13.0		50.0		14.0		
kalium	7.4		7.6		15.0		9.4		
natrium	36		60		130		77		

**Bijlage 16c.**

Praktijkmonitoring metalen: resultaten acute algentest (lab-bioassay)

parameter	code	gemiddelde	s.d.	sign.
A	blanco	408497	62805	
	inlaat	632015	36548	referentie
	lozing 1	539076	23752	***
	lozing 2	610386	34612	
	beek	505839	38581	***
	Na2SO4	98145	29701	
iA	blanco	n.v.t.	n.v.t.	
	inlaat	-54.7	8.9	referentie
	lozing 1	-32.0	5.8	***
	lozing 2	-49.4	8.5	
	beek	-23.8	9.4	***
	Na2SO4	76.0	7.3	
$\mu$	blanco	1.264	0.053	
	inlaat	1.418	0.016	referentie
	lozing 1	1.360	0.016	***
	lozing 2	1.398	0.014	
	beek	1.334	0.025	***
	Na2SO4	0.778	0.131	
i $\mu$	blanco	n.v.t.	n.v.t.	
	inlaat	-12.1	1.3	referentie
	lozing 1	-7.6	1.3	***
	lozing 2	-10.6	1.1	
	beek	-5.5	2.0	***
	Na2SO4	38.4	10.4	

Significant verschillend van referentie:  
(getoetst met SPSS-'Bonferonni'-test)

*	P <= 0,050
**	P <= 0,010
***	P <= 0,005



**Bijlage 16d.**

Praktijkmonitoring metalen: resultaten acute bacterietest (Microtox, lab-bioassay)

replica	gamma op t = 30 minuten				
	inlaat	lozing 1	lozing 2	beek	Na2SO4
A	-0.096	-0.099	-0.340	-0.095	-0.159
B	-0.129	-0.080	-0.340	-0.155	-0.143
C	-0.012	0.002	-0.315	-0.155	-0.126
D	-0.042	0.025	-0.298	-0.052	-0.100
E	-0.061	-0.061	-0.330	-0.126	-0.135
gemiddeld	-0.068	-0.043	-0.324	-0.117	-0.133
s.d.	0.046	0.054	0.018	0.044	0.022

**Bijlage 16e.**

Praktijkmonitoring metalen: resultaten acute watervlooiëntest (lab-bioassay)

replica	% immobiel op t = 48 uur					
	blanco	inlaat (referentie)	lozing 1	lozing 2	beek	Na2SO4
A	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	100.0
B	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	100.0
C	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	100.0
D	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	100.0
E	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	100.0
F	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	100.0
G	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	100.0
gemiddeld:	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	100.0
s.d.	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
sign.	-	-				***

sign.	significant verschillend van referentie: (getoetst met SPSS-'Wilcoxon's rangsom'-test)
*	P <= 0,050
**	P <= 0,010
***	P <= 0,005



**Bijlage 16f.**

Praktijkmonitoring metalen: resultaten acute Rotokit F-test (lab-bioassay)

replica	% immobiel op t = 24 uur					
	blanco	inlaat (referentie)	lozing 1	lozing 2	beek	Na2SO4
A	0	0	20	0	0	100
B	20	0	0	0	40	100
C	20	0	0	0	0	80
D	20	0	0	0	0	60
E	0	0	20	0	0	60
F	0	0	0	0	0	100
G	20	20	20	0	0	80
H	0	0	20	0	20	80
I	0	0	0	0	0	100
J	0	0	20	0	0	100
K	0	0	0	0	0	100
L	0	0	0	20	0	100
gemiddeld:	6.7	1.7	8.3	1.7	5.0	88.3
s.d.	9.8	5.8	10.3	5.8	12.4	15.9
sign.	-	-				***

sign.	significant verschillend van referentie: (getoetst met SPSS-'Wilcoxon's rangsom'-test)
*	P <= 0,050
**	P <= 0,010
***	P <= 0,005

**Bijlage 16g.**

Praktijkmonitoring metalen: resultaten acute FluoroMetPLATE (lab-bioassay)

(locatie)code	som TU's (metalen)	fluorescentie	
		gemiddelde	waarde (sign.)
blanco (negatieve controle)		gemiddelde	132.00 ***
		s.d.	12.80
inlaat (referentie)	6.64	gemiddelde	32.33
		s.d.	6.62
lozing 1	0.39	gemiddelde	149.58 ***
		s.d.	6.19
lozing 2	5.48	gemiddelde	32.33
		s.d.	6.62
beek	5.14	gemiddelde	14.05 ***
		s.d.	2.18
Na2SO4	-	gemiddelde	581.63 ***
		s.d.	35.05
positieve controle (CuSO4)	-	gemiddelde	3.50 ***
		s.d.	0.29

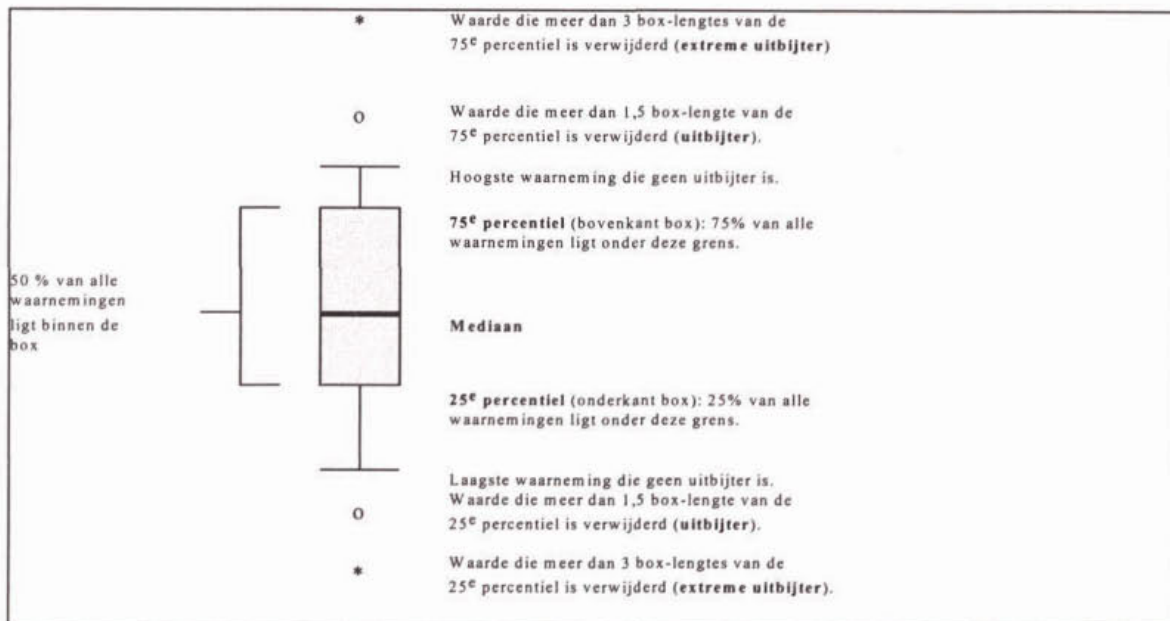
sign.	significant verschillend van referentie: (getoetst met SPSS-'Bonferonni'-test)
*	P <= 0,050
**	P <= 0,010
***	P <= 0,005



## Bijlage 17.

### Weergave van waarnemingen met behulp van boxplots

Omdat bij aanvang van het onderzoek nog niets bekend was over de statistische verdeling van de waarnemingen worden sommige resultaten gepresenteerd met behulp van zogenaamde "boxplots". Een boxplot geeft op grafische wijze inzichtelijk weer hoe de feitelijke verdeling van de waarnemingen is. In onderstaande figuur wordt zo'n boxplot weergegeven en de onderdelen ervan benoemd.



**Figuur** Opbouw van een "boxplot" (naar Norusis, 1992). N.B.: De codes voor uitbijters (o) en extreme uitbijters (\*) worden meestal gelabeld met een cijfercode. Deze cijfercode geeft aan welke waarneming (sublocatie) als (extreme) uitbijter wordt aangemerkt.

Een essentieel onderdeel van de boxplot is de weergave van de mediaan<sup>4</sup>. Weergave van de mediaan, in plaats van het meetkundige gemiddelde, heeft de volgende twee voordelen:

- De mediaan is minder gevoelig voor uitbijters;
- De ligging van de mediaan binnen de boxplot zegt iets over de "scheefheid" van de verdeling van de waarnemingen.

Wanneer de mediaan niet in het midden van de box ligt dan zijn de waarnemingen scheef verdeeld (*skewed*)<sup>5</sup>. Ligt de mediaan dichterbij de 25<sup>e</sup> percentiel (onderkant box) dan bij de 75<sup>e</sup> percentiel (bovenkant box) dan zijn de waarnemingen positief-scheef-verdeeld (*positively skewed*). Wanneer het tegendeel waar is, dan zijn de waarnemingen negatief-scheef-verdeeld (*negativevely skewed*) (Norusis, 1992). De box-lengte is een maat voor de spreiding of variabiliteit van de waarnemingen: hoe langer de box, hoe groter de spreiding of variabiliteit. Boxplots zijn ook heel bruikbaar om de verdelingen van de waarnemingen in verschillende categorieën met elkaar te vergelijken.

<sup>4</sup> Mediaan: Voor een oneven aantal, op grootte geordende waarnemingen is dit de middelste waarneming. Voor een even aantal waarnemingen is de mediaan het gemiddelde van de twee middelste waarnemingen.

<sup>5</sup> Scheef (*Skewed*) wil zeggen dat de waarnemingen niet symmetrisch zijn verdeeld t.o.v. het gemiddelde.

## Bijlage 18a.

Praktijkmonitoring bestrijdingsmiddelen, HH Delfland, resultaten acute waterloolien lab-bioassays (uitgevoerd door Aquasense) en waterloolien veldbioassays (uitgevoerd door HH Delfland).

HH Delfland locatiecode	monstardatum	% mobiele waterloolien	veldbioassay		lab-bioassay		TU's organofosforpesticiden*:		som TU	Dichloorvos	Pyrazofos	Chloorfeninfos	Heptenofos	Diazinon	Parathion-ethyl
			waargenomen effect?	waargenomen effect?	waargenomen	afgond effect?	(0,028)	(0,18)							
OW047-01 (referentie)	04-09-96	0	0	0	0	0	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
OW090-00 (referentie)	04-09-96	0	0	0	0	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
OW051c00	05-09-96	0	0	0	0	0,33	0,00	0,06	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
OW056-00	03-09-96	0	0	0	0	0,50	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,50
OW015-03	03-09-96	0	0	0	0	0,86	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,86
OW301-00	03-09-96	0	0	0	0	1,43	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	1,18
OW062-02	04-09-96	0	3	0	0	0,46	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
OW004-01	03-09-96	10	0	0	0	3,32	0,68	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	2,64
OW037-08	03-09-96	10	3	0	0	1,29	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
OW285-11 (referentie)	05-09-96	10	5	10	0,17	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
OW202-00	04-09-96	20	0	0	0,05	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,05	0,00
OW062-08	04-09-96	20	0	0	0,08	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,02	0,00
OW043-02	04-09-96	30	3	0	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
OW026-00	04-09-96	30	3	0	1,61	0,32	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
OW306-22	03-09-96	100	ja	0	0,05	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
OW058-01	03-09-96	100	ja	0	1,59	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
OW414-00	04-09-96	100	ja	0	2,30	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,01	0,21
OW110-00	03-09-96	100	ja	3	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
OW119-00	04-09-96	100	ja	3	1,65	1,21	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,43
OW221a12	04-09-96	100	ja	3	5,71	5,71	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
OW080-02	03-09-96	100	ja	100	0,68	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,13	0,00
OW310-00	03-09-96	100	ja	100	4,14	3,93	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
OW115-12	03-09-96	100	ja	100	5,84	5,84	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00

\*: alleen de 6 meest problematische organofosforpesticiden hier weergegeven. De som TU is berekend over totaal 17 organofosforpesticiden.



**Bijlage 18b.**

Praktijkmonitoring bestrijdingsmiddelen, HH Delfland, resultaten van de uitvoering van watervlooiën veldbioassays met conventionele glazen potten en RIZA-biokorven. Testen uitgevoerd door HH Delfland.

HH Delfland locatiecode	maand	aantal immobiele* watervlooiën		
		biokorf (RIZA)	pot (Delfland)	biokorf - pot
1 OW004-01	aug.	5	7	-2
	juli	10	10	0
2 OW037-08	juli	8	4	4
3 OW043-02	aug.	10	10	0
4 <b>OW047-01 (referentie)</b>	aug.	<b>3</b>	<b>8</b>	<b>-5</b>
	juli	<b>1</b>	<b>1</b>	<b>0</b>
5 OW056-00	juli	3	3	0
6 OW110-00	aug.	10	3	7
	juli	10	10	0
7 OW115-12	aug.	10	10	0
	juli	10	10	0
8 OW119-00	aug.	5	2	3
	juli	5	7	-2
9 OW202-00	aug.	10	7	3
	juli	2	4	-2
10 <b>OW285-11 (referentie)</b>	aug.	<b>0</b>	<b>0</b>	<b>0</b>
	juli	<b>0</b>	<b>0</b>	<b>0</b>
11 OW301-00	aug.	10	10	0
	juli	3	8	-5
12 OW306-22	aug.	10	10	0
	juli	5	5	0
13 OW306-23	aug.	0	10	-10
	juli	10	10	0
14 OW310-00	aug.	10	10	0
	juli	10	10	0
15 OW414-00	aug.	2	6	-4
	juli	10	10	0
	<b>n =</b>	27	27	

\*: immobiel = dood + niet actief

### Bijlage 19a.

Praktijkmonitoring bestrijdingsmiddelen, H Fleverwaard, resultaten acute algen- en watervlooien lab-bioassays (uitgevoerd door AquaSense) en watervlooien veldbioassays (uitgevoerd door H Fleverwaard).

Resultaten actieve biologische monitoring m.b.v. lab-bioassays (uitgevoerd door AquaSense) en watervlo-veldbioassays (uitgevoerd door HH Fleverwaard).  
 \*, \*\*\*, \*\*\*\*; significant beter of slechter dan de bijbehorende referentie (\*:  $P \leq 0,050$ ; \*\*:  $P \leq 0,010$ ; \*\*\*\*:  $P \leq 0,005$ )  
 D.m.v. omkadering wordt aangegeven dat de betreffende waarde significant SLECHTER is dan de referentiewaarde (monster is toxischer dan de referentie).

Locatie	week nr.	monster-datum	Algen lab-bioassay		Watervlooien	lab- Watervlo-veldbioassay		
			IA (72u) (% inhibitie)	I $\mu$ (72u) (% inhibitie)	% immobiel (48u)	% niet actief (7d) jongen opmerkingen		
1 Lokale referentie	26	24-06-96	-160.3	-23.7	0.0	0.0	?	
Locatie 1			-128.2*	-27.4*	0.0	40.0	veel	
Lokale referentie	31	29-07-96	-32.3	1.3	10.0	0.0	veel test 1,5 week NA monsterdatum ingezet	
Locatie 1			-122.8***	-24.1***	0.0	0.0	? idem	
Lokale referentie	36	06-09-96	-29.4	-1.9	2.5	0.0	veel scheepvaart?	
Locatie 1			-115.9***	-24.6***	7.5	0.0	veel	
2 Lokale referentie	26	24-06-96	-34.5	-2.6	27.5	0.0	veel	
Locatie 2			54.5***	38.8***	0.0***	20.0	veel	
Lokale referentie	31	29-07-96	-32.6	-2.9	47.5	0.0	veel test 1,5 week NA monsterdatum ingezet	
Locatie 2			-35.5	11.4***	0.0***	0.0	veel idem	
Lokale referentie	36	06-09-96	-45.9	-5.1	7.5	0.0	weinig	
Locatie 2			-111.8***	-18.2***	7.5	0.0	weinig	
3 en 4 Lokale referentie	25	21-06-96	49.4	31.8	0.0	0.0	veel	
Locatie 3			-156.5***	-24.6***	0.0	0.0	veel	
Locatie 4			-106.4***	-1.3***	0.0			
Lokale referentie	35	26-08-96	-3.4	16.3	0.0	10.0	weinig ? vitaliteit ingezette Daphnia's	
Locatie 3			-197.6***	-26.1***	0.0	40.0	50-75 ? vitaliteit ingezette Daphnia's	

#### Algentest (zie ook bijlage

- iA Gemiddeld inhibitiepercentage (I) "oppervlakte onder de groeicurve (A)" (% remming t.o.v. blancomedium). In geval van negatieve waarden is sprake van stimulering hoe negatiever de waarden, hoe 'lager' het effect (dus minder toxisch).
- i $\mu$  Gemiddeld inhibitiepercentage (I) "groeisnelheid ( $\mu$ )" (% remming t.o.v. blancomedium). In geval van negatieve waarden is sprake van stimulering t.o.v. de blanco: hoe negatiever de waarden, hoe 'lager' het effect (dus minder toxisch).





## Bijlage 19c.

### Praktijkmonitoring bestrijdingsmiddelen, H Fleverwaard, Locatie 2: chemische analyseresultaten en berekening toxic units\*.

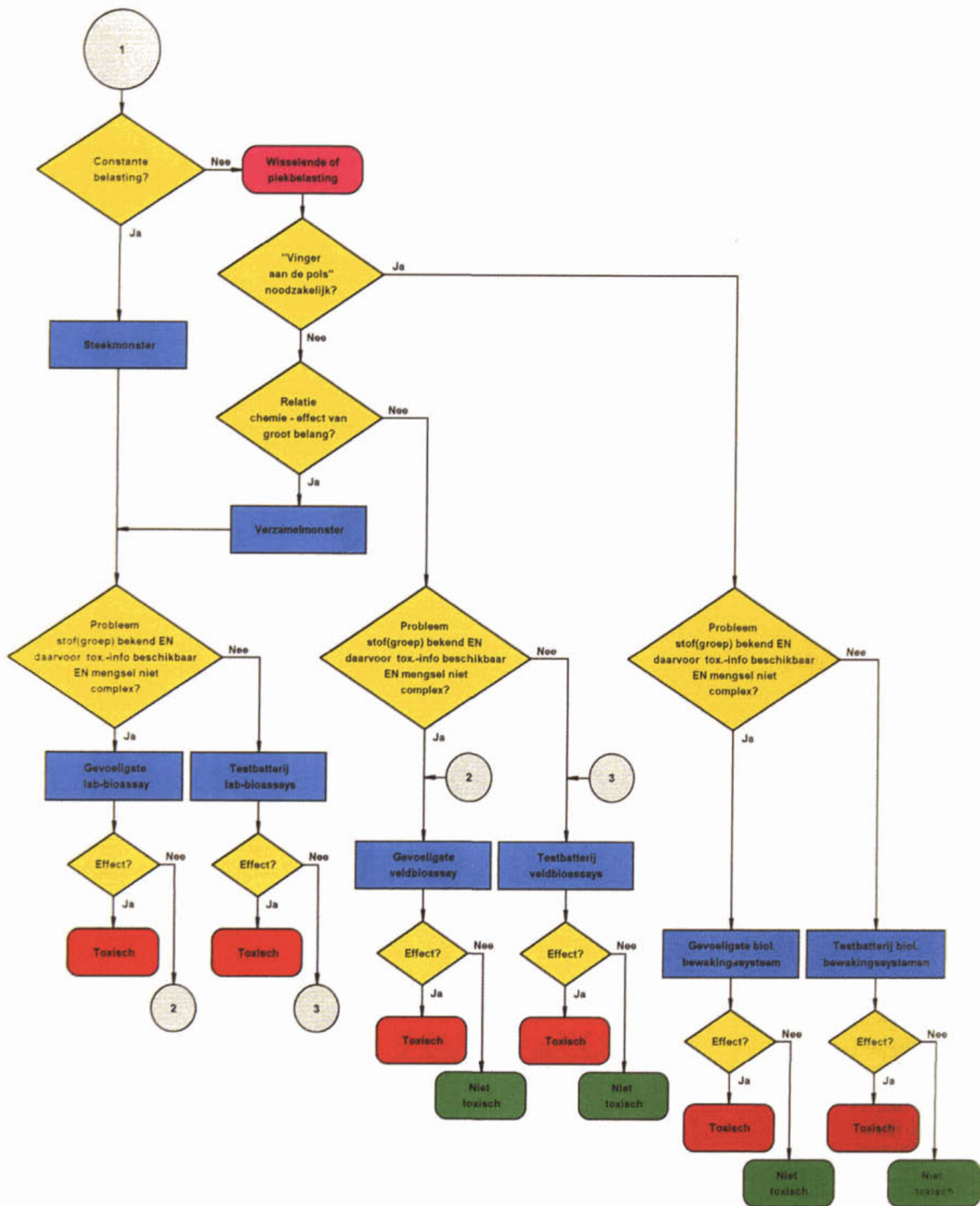
Bestrijdingsmiddelen boven	laagste tox-waarde (µg/l)				monsterdatum				
	alg (EC50 72uur)	watervlo (EC50 48uur)	24-06-96		29-07-96		6-09-96		
			gemeten concentr. (µg/l)	TU alg watervlo	gemeten concentr. (µg/l)	TU alg watervlo	gemeten concentr. (µg/l)	TU alg watervlo	
<b>Fenoxyzuren</b>									
2,4-D	25000	153000	0.00	0.00	0.08	0.00	0.00	0.20	0.00
MCPA	56000	1100000	0.15	0.00	0.09	0.00	0.00	0.99	0.00
MCPP	220000	420000	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.11	0.00
bentazon	7689	64000	0.00	0.00	0.05	0.00	0.00	0.00	0.00
			som	0.00	0.00	0.00	0.00	som TU's:	0.00
									0.00
<b>Fenylureum herbiciden</b>									
metoxuron	64	2160000	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
diuron	13	1400	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
monolinuron	1	32000	niet	-	niet	-	-	niet gemeten	-
difenoxuron	**	**	niet	-	niet	-	-	niet gemeten	-
			som	0.00	0.00	0.00	0.00	som TU's:	0.00
									0.00
<b>Triazines</b>									
atrazine	32	240	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.15	0.005
simazine	50	1000	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.06	0.001
			som	0.00	0.00	0.00	0.00	som TU's:	0.01
									0.00
<b>Overige</b>									
carbendazim	340	460	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.30	0.00
dimethoat	290000	2500	0.05	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
pentachloorfenol	340	100	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
<b>Som TU over alle stoffen***:</b>			<b>0.00</b>	<b>0.00</b>	<b>0.00</b>	<b>0.00</b>	<b>0.00</b>	<b>0.01</b>	<b>0.00</b>

\*: toxic unit (TU) = 'gemeten gehalte'/EC50 voor betreffende stof. Indien (som) TU's >= 1 betekent dit dat in theorie minimaal 50% effect wordt verwacht.

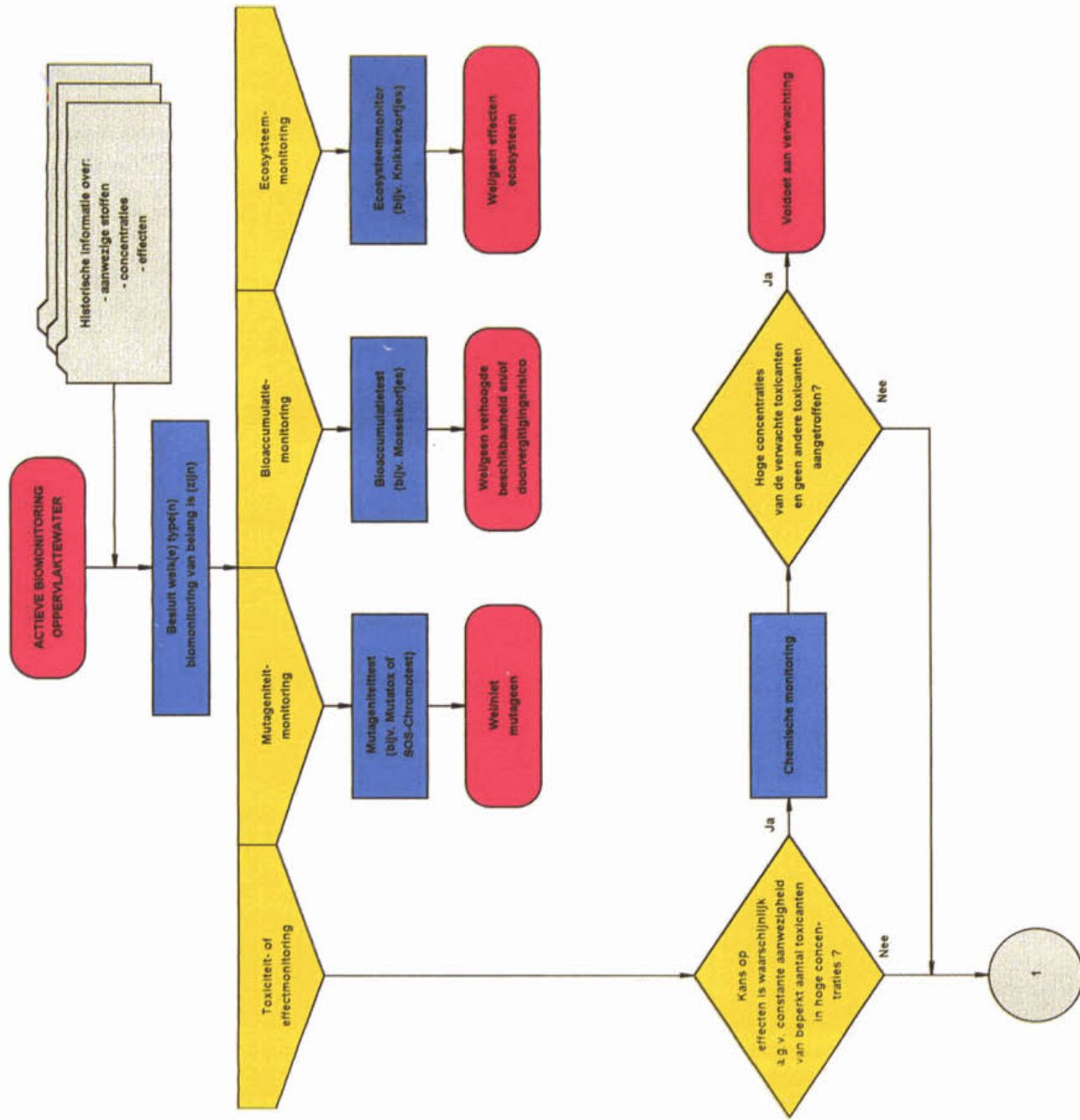
\*\* : geen toxiciteitswaarde gevonden in de literatuur

\*\*\*: deze waarde moet als indicatief worden beschouwd omdat de stoffen een verschillend werkingsmechanisme hebben en het derhalve strikt genomen niet mogelijk is om de





Figuur 2 Keuzesysteem voor de selectie van toxiciteit- of effectmonitoringtechnieken (①: zie figuur 1).



**Figuur 1** Keuzesysteem voor de selectie van biomonitoringstypen (①: zie figuur 2). Gebruikte symbolen stroomschema

