

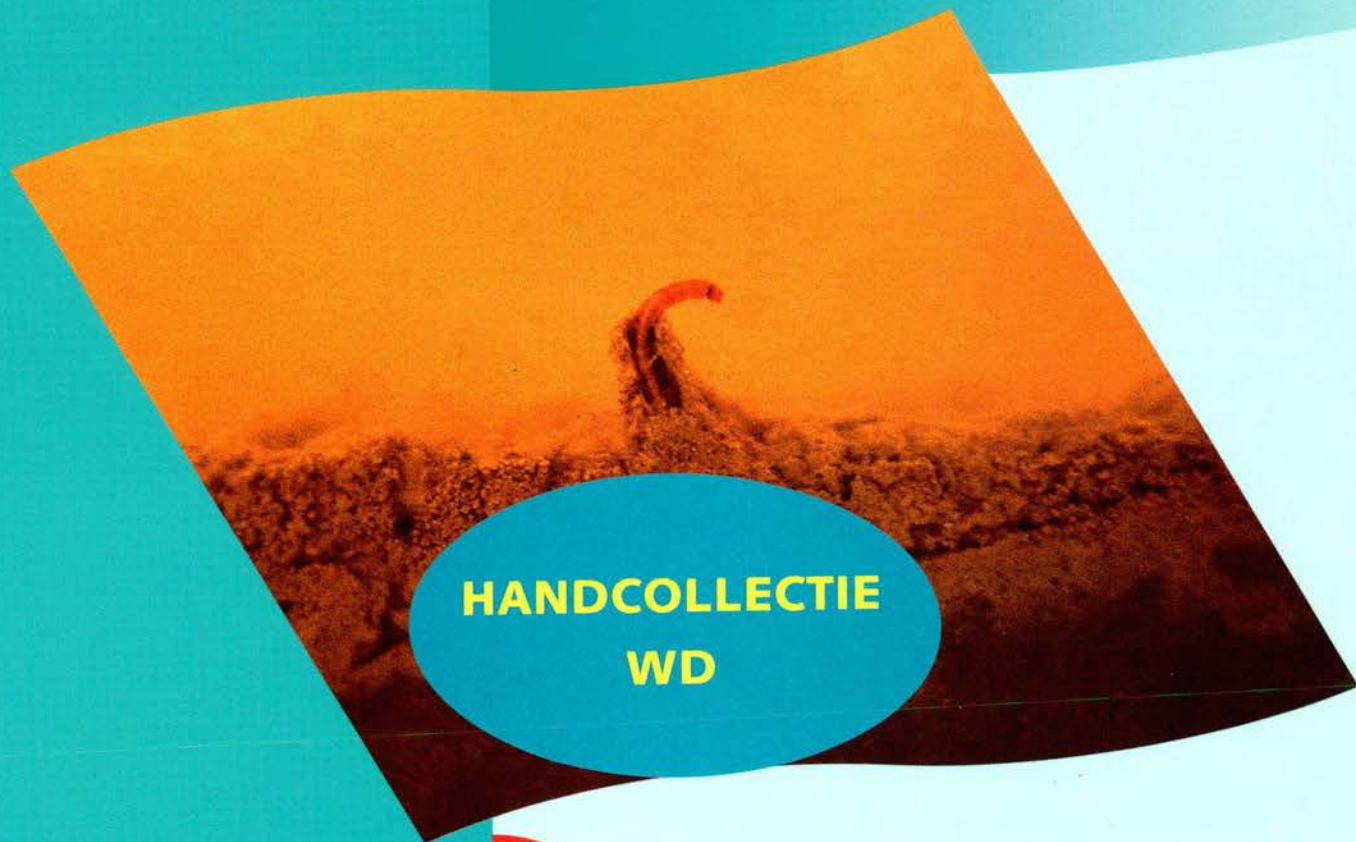


DI: 107237

stowa

Stichting Toegepast Onderzoek Waterbeheer

Ecotoxicologische risicobeoordeling van verontreinigde waterbodems



**HANDCOLLECTIE
WD**

97

42

INHOUD

TEN GELEIDE	5
SAMENVATTING	7
1 INLEIDING	11
1.1 Waarom ecotoxicologische risicobeoordeling van waterbodems?	11
1.2 Omvang en aard regionale waterbodemverontreiniging	11
1.3 Afbakening project	12
1.4 Wettelijk kader	12
1.5 Doelstelling	15
1.6 Leeswijzer	16
2 BEGRIPPEN EN BESTAANDE METHODEN	17
2.1 Begrippenkader	17
2.1.1 Ecotoxicologische risicobeoordeling van waterbodems	17
2.1.2 Integrale benadering	19
2.2 Bestaande ecotoxicologische beoordelingsmethoden	21
2.3 Beoordeling van verontreinigde waterbodems in Nederland	24
2.3.1 Ecotoxicologische beoordeling: de 'Triade'-benadering	24
2.3.2 Overige benaderingswijzen	25
3 ERVARING EN WENSEN WATERKWALITEITSBEHEERDERS	27
3.1 Inleiding	27
3.2 Ervaringen, knelpunten en wensen	27
3.2.1 Inventarisatie van ervaringen	27
3.2.2 Knelpunten	29
3.2.3 Wensen	29
3.3 Conclusies	31
4 GESCHIKTE BEOORDELINGSMETHODE	33
4.1 Randvoorwaarden	33
4.1.1 Aansluiten bij de systematiek van de WBB	33
4.1.2 Implementatie van biologisch onderzoek	33
4.1.3 Locatiespecifiek	34
4.1.4 Kosten-effectief	35
4.2 Basisontwerp beoordelingsmethode	35
4.2.1 Stapsgewijs keuzesysteem	35
4.2.2 Keuzesysteem bij aanwezigheid van slechts één problematische stof(groep)	37
4.2.3 Keuzesysteem bij aanwezigheid van meerdere problematische stofgroepen	38
5 SELECTIE VAN BEOORDELINGSTECHNIEKEN	39
5.1 Gewenste technieken	39
5.2 Geselecteerde technieken	39
5.3 Onderbouwing selectie	40
5.3.1 Bioassays voor de beoordeling van toxische effecten	40
5.3.2 Bioaccumulatietest voor de beoordeling van doorvergiftigingsrisico's	41
5.3.3 Veldinventarisatie voor de beoordeling van negatieve effecten in het veld	42
5.4 Beschrijving geselecteerde technieken	44
5.5 Verhoging kosten-effectiviteit bioassays	45

6 MOGELIJKHEDEN VAN DE GESELECTEERDE TECHNIKEN	47
6.1 Inleiding	47
6.2 Beoordeling van toxische effecten	47
6.2.1 Beoordeling trefkans technieken	47
6.2.2 Metalen	52
6.2.3 PAK's	52
6.2.4 PCB's	54
6.2.5 Organochloorbestrijdingsmiddelen	54
6.2.6 Hexachloorbenzeen	55
6.2.7 Minerale olie	55
6.3 Beoordeling van doorvergiftigingsrisico's	57
6.4 Beoordeling van negatieve effecten in het veld	58
6.4.1 Beoordeling van ecologische kwaliteit	58
6.4.2 Beoordeling van pathogene effecten	58
6.5 Aanvullende technieken en toekomstige ontwikkelingen	59
6.5.1 Technieken voor beoordeling mutagene en carcinogene effecten	59
6.5.2 Gevoeligere technieken	60
6.5.3 <i>In situ</i> -technieken	61
 7. LEIDRAAD ECOTOXICOLOGISCHE RISCOBEOORDELING WATERBODEMS	 63
7.1 Ecotoxicologische risicobeoordeling in het Nader onderzoek	63
7.1.1 Stapsgewijs keuzesysteem	63
7.1.2 Selectie van kansrijke bioassays	68
7.1.3 Verklaarbaarheid waargenomen effecten	69
7.2 Toepassing screeningstesten in het Oriënterend onderzoek	71
7.3 Toepassing ecotoxicologische informatie uit het Nader onderzoek bij de prioritering	71
 8 PRAKTIJKVOORBEELD: SASSENHEIMERVAART	 73
8.1 Inleiding	73
8.2 Locatie- en probleemomschrijving	73
8.3 Toepassing keuzesysteem	75
8.3.1 Stap 0: bemonstering en fysisch/chemische analyse	75
8.3.2 Stap 1: acute bioassays	75
8.3.3 Stap 2: chronische bioassays	77
8.3.4 Stap 3: bioaccumulatietest	78
8.3.5 Stap 4 en 5: veldinventarisatie	79
8.4 Discussie, conclusies, prognose en aanbevelingen	80
8.4.1 Discussie	80
8.4.2 Conclusies	81
8.4.3 Prognose t.a.v. saneringssucces	81
8.4.4 Aanbevelingen	81
 9 DISCUSSIE, CONCLUSIES EN AANBEVELINGEN	 83
9.1 Discussie	83
9.2 Conclusies	84
9.3 Aanbevelingen	85
 10 BEGRIPPENLIJST	 87
 11 REFERENTIES	 93
 BIJLAGEN	 101

TEN GELEIDE

De ecotoxicologische kwaliteitsbeoordeling van verontreinigde waterbodems speelt een rol bij de urgentiebepaling van saneringen van waterbodems. Voor de Nederlandse waterbeheerders is het van belang hiervoor een eenvoudige en betrouwbare methode te kunnen gebruiken. De door Rijkswaterstaat ingevoerde TRIADE-benadering is in eerste instantie ontwikkeld voor gebruik in de grotere rijkswateren. Een verdere uitwerking van deze methodiek, inclusief een onderbouwde kosten-effectieve aanpak, leek intussen mogelijk. Om die reden heeft de STOWA opdracht verleend aan AquaSense voor het verder ontwikkelen van een methode voor de ecotoxicologische kwaliteitsbeoordeling van verontreinigde waterbodems, die ook geschikt dient te zijn voor gebruik in de kleinere regionale wateren. Hierbij is intensief samengewerkt met het RIZA.

De beoordelingsmethode is primair gericht op de risico's van stoffen, die in het kader van de Wet Bodembescherming (WBB) worden gemeten, en waarvan de gehalten de Interventiewaarde van de Circulaire Inwerkingtreding WBB overschrijden (klasse 4). De voorliggende leidraad geeft in de vorm van een keuzesysteem aan, hoe op een efficiënte en kosten-effectieve wijze inhoud kan worden gegeven aan de zogenoemde '**urgent, tenzij**'-bepaling: met de stapsgewijze toepassing van kansrijke ecotoxicologische beoordelingstechnieken wordt de aanwezigheid van effecten door waterbodemonverontreinigingen verklaard, of wordt juist ook de afwezigheid daarvan aannemelijk gemaakt. Dit laatste geeft het bevoegd gezag informatie welke kan leiden tot bijstelling van het predikaat 'urgent'.

In een voorbeeldonderzoek in het beheersgebied van het Hoogheemraadschap van Rijnland (Sassenheimervaart) is gedemonstreerd hoe in de praktijk met het keuzesysteem kan worden omgegaan.

Het onderzoek werd in 1995 door het bestuur van de STOWA opgedragen aan AquaSense te Amsterdam. Het projectteam bestond uit drs. J.M. Brils, Dr. F. Heinis en ir. L.R.M. de Poorter. Van het RIZA waren drs. C. van de Guchte, ir. C.A. Schmidt en Dr. P.J. den Besten bij het project betrokken.

Het project is namens de STOWA begeleid door een commissie bestaande uit drs. C. van de Guchte (RIZA) als voorzitter, en drs. J. Blok (BKH), Dr. J. Hemelraad (Waterschap De Dommel), Dr. I.R.M. Hovenkamp-Obbema (Hoogheemraadschap van de Uitwaterende Sluizen in Hollands Noorderkwartier), ir. K.P. Raap (Hoogheemraadschap van Rijnland), ing. I. Romijn (Provincie Zuid-Holland), ir. C. Schmidt (RIZA), ir. M. Talsma (Zuiveringsschap Limburg) en Dr. S.P. Klapwijk (STOWA) als leden.

De STOWA hoopt dat met het protocol, dat in dit rapport staat beschreven, een bruikbare en kosten-effectieve uitwerking beschikbaar is gekomen voor de ecotoxicologische kwaliteitsbeoordeling van verontreinigde waterbodems in (met name) de kleinere regionale wateren.

Utrecht, november 1997

De directeur van de STOWA

drs. J.F. Noorthoorn van der Kruijff

SAMENVATTING

Aanleiding en doel onderzoek

In Nederland wordt op 10% van de regionale waterbodemplacaties de interventiewaarde (klasse 4) voor een of meerdere stoffen overschreden (CUWVO, 1996). Gevalsbepalende verontreinigingen zijn vooral metalen (met name zink en koper) en in mindere mate ook PAK's, minerale olie en PCB's. Sanering van alle deze locaties is op korte termijn niet haalbaar vanwege de hoge kosten en vanwege het ontbreken van voldoende stortlocaties. De vraag om een goede urgentiebepaling en prioriteitstelling is dan ook groot, mede omdat de beoordeling van de waterbodemplacaliteit op basis van generieke normen ten aanzien van gehalten van stoffen geen goed inzicht geeft in de actuele ecologische risico's op een specifieke locatie.

Door de STOWA is derhalve in 1995 aan AquaSense opdracht verleend om een op regionale wateren toegesneden methode te ontwikkelen om locatiespecifiek, op eenduidige wijze de actuele ecologische risico's (en daarmee de saneringsurgentie) van matig (klasse 3) tot ernstig (klasse 4) verontreinigde waterbodemplacaties te kunnen beoordelen. De methode is primair gericht op de risico's van stoffen die in het kader van de Wet Bodembescherming (WBB) worden gemeten en waarvan de gehalten de interventiewaarde (circulaire inwerkingtreding WBB) overschrijden.

Op basis van een inventarisatie van wensen en ervaringen van waterkwaliteitsbeheerders en overleg met deskundigen zijn criteria geformuleerd waaraan de te ontwikkelen methodiek zou moeten voldoen. Deze hebben geleid tot de volgende randvoorwaarden:

- De methode moet aansluiten bij de systematiek van de WBB en wel bij de invulling van de route 'sanering is **URGENT, TENZIJ ...**'. Dit betekent dat de methode moet zijn gericht op het aannemelijk maken van de **AFWEZIGHEID** van ecotoxicologische risico's en/of effecten van de aangetroffen verontreiniging(en);
- Implementatie van biologisch onderzoek is essentieel;
- Met de methode moet een locatiespecifieke beoordeling mogelijk zijn;
- De geselecteerde beoordelingscomponenten en de daaronder vallende -technieken moeten zo kosten-effectief mogelijk worden toegepast.

Doel van het onderzoek was het ontwikkelen van een *leidraad*, die voldoet aan deze randvoorwaarden en waarmee de waterkwaliteitsbeheerders verontreinigde waterbodemplacaties ecotoxicologisch kunnen beoordelen.

Leidraad

Uitgangspunt van de leidraad is het toepassen van uitsluitend kansrijke biologische beoordelings-technieken. Als 'kansrijk' worden die technieken aangeduid waarmee in theorie een *trefkans* bestaat op het waarnemen van negatieve effecten als gevolg van de gevalsbepalende, locatiespecifieke waterbodemplacaliteitsverontreiniging(en). Deze kansrijke technieken worden gekozen uit een beperkte (betaalbare), weloverwogen set van praktisch uitvoerbare en betrouwbare biologische beoordelingstechnieken. Deze set is zo samengesteld dat hiermee in voldoende mate aannemelijk kan worden gemaakt dat er, volgens de huidige inzichten, géén duidelijke biologische effecten zijn en een actueel ecologisch risico dus niet aantoonbaar is. Het gaat hierbij om het aannemelijk maken van de afwezigheid van:

- toxische effecten;
- EN van doorvergiftigingsrisico's;
- EN van negatieve effecten in het veld.

Hierbij wordt benadrukt dat hiermee nog niet is aangetoond dat er helemaal géén ecologische risico's aanwezig zijn. De geselecteerde set van technieken zal namelijk, onder andere vanwege de

beperkte, in lang niet alle gevallen de meest gevoelige techniek bevatten om de risico's van specifieke gevalsbepalende stoffen te beoordelen. De geselecteerde set moet dan ook worden gezien als een set van aanbevolen technieken die het beste tegemoet komt aan het genoemde uitgangspunt.

In dit rapport wordt de leidraad gepresenteerd in de vorm van een keuzesysteem (zie hoofdstuk 7 en de 'uitklapversie' achter de bijlagen). Het keuzesysteem is zo ontworpen dat uitsluitend kansrijke technieken via een stapsgewijze toepassing worden geselecteerd. Voor iedere situatie wordt in principe dezelfde volgorde van technieken aanbevolen¹. Deze volgorde van de stappen is bepaald op basis van kosten-effectiviteit:

1. **Acute lab-bioassay(s):** screeningtest(en) met algen, bacteriën, kreeftachtigen (*Thamnocephalus platyurus* of *Daphnia magna*) en rotiferen (*Brachionus calyciflorus*);
2. **Chronische lab-bioassay(s):** met *D. magna* en muggenlarven (*Chironomus riparius*);
3. **Bioaccumulatietest:** met oligochaeten;
4. **Veldinventarisatie:** dichtheid en aantal soorten chironomiden en oligochaeten;
5. **Veldinventarisatie:** kaakmisvormingen bij *Chironomus*-larven.

Indien in één van deze beoordelingsstappen daadwerkelijk negatieve effecten worden waargenomen EN indien aannemelijk kan worden gemaakt dat deze effecten (deels) worden veroorzaakt door een of meerdere van de gemeten stoffen (onderbouwing oorzaak-gevolg-relatie)², dan wordt gesteld dat een actueel ecologisch risico aanwezig is. In dit geval kan de beoordeling worden gestopt. Indien géén negatieve effecten worden gemeten, dan vervolgt de beoordeling met de volgende stap. Indien alle stappen zijn doorlopen en géén verklaarbare negatieve effecten zijn waargenomen, dan kan voor het betreffende geval worden gesteld dat de gevalsbepalende stoffen géén actueel ecologisch risico opleveren. Het bevoegd gezag wordt vervolgens aanbevolen om het (chemische) saneringsoordeel 'urgent' om te buigen in het oordeel 'niet urgent'. In het geval dat de waargenomen effecten niet kunnen worden verklaard op basis van de gemeten stoffen, zou vervolgonderzoek de oorzaak van deze effecten moeten ophelderen (zie ook hierna).

Praktijkvoorbeeld

Aan de hand van een voorbeeldonderzoek in de Sassenheimervaart (beheersgebied Hoogheemraadschap van Rijnland) is gedemonstreerd hoe in de praktijk met het keuzesysteem kan worden omgegaan. De veenbodem van deze vaart is matig tot ernstig verontreinigd met een cocktail aan verontreinigingen (PCB, DDT, PAK, metalen en olie). Deze waterbodem is beoordeeld met alle vijf hierboven genoemde stappen en de daaronder vallende technieken.

Het keuzesysteem bleek in deze praktijktoetsing praktisch toepasbaar doordat geen echte knelpunten zijn geconstateerd die een beoordeling van actuele risico's onmogelijk maken. De resultaten op deze praktijklocatie illustreren echter dat het de overweging waard is om, wanneer het budget dit toelaat, de randvoorwaarde 'kosten-effectiviteit' niet al te strikt te nemen. In de eerste beoordelingsstap (screeningtesten) kon namelijk reeds een actueel risico als gevolg van zware metalen aannemelijk worden gemaakt en de beoordeling had hier kunnen stoppen. In de daarna volgende 'extra' stappen werd het bestaan van dit actueel risico van metalen echter verder ondersteund door de resultaten van stap 3 (bioaccumulatietest) en stap 4 (veldinventarisatie), en in mindere mate ook van stap 2 (chronische bioassays), en kon de oorzaak van de effecten verder worden opgehelderd op basis van het resultaat van stap 3. Deze stap leverde bovendien aanvullende informatie, namelijk over een actueel doorvergiftigingsrisico van PCB en DDE en DDD.

¹ Het is ook mogelijk om in het keuzesysteem met een andere stap dan stap 1 te beginnen.

² In dit rapport wordt ook een methodiek beschreven waarmee beoordeeld kan worden of de gehalten aan gemeten stoffen in theorie een bijdrage hebben gehad aan het veroorzaken van de negatieve effecten die zijn gemeten met bioassays.

Discussie

Het beschreven keuzesysteem voldoet aan de vier gestelde randvoorwaarden: (1) het systeem is gebaseerd op de toepassing van biologische technieken (bioassays en veldinventarisatie), (2) het systeem is locatiespecifiek omdat de mate en aanwezigheid van specifieke verontreinigende stoffen bepaalt welke technieken worden toegepast, (3) het systeem is kosten-effectief doordat een stapsgewijze benadering wordt gevolgd en de mogelijkheid wordt geboden om de bioassays efficiënter toe te passen. Het keuzesysteem voldoet ook aan de vierde randvoorwaarde: (4) aansluiten op de Wet Bodembescherming. Daar staat immers dat beargumenteerd kan worden afgeweken van het daar gestelde, en dat met behulp van bioassays en veldwaarnemingen de beoordeling van de urgentie kan worden verbeterd (ten opzichte van het uitsluitend meten van gehalten van stoffen). Door de toepassing van dit systeem in de praktijk zal nog moeten blijken in hoeverre het bevoegd gezag hiermee om zal gaan.

Via het opzetten en aanbieden van cursussen, symposia of workshops kunnen de waterbeheerders eventueel worden getraind in de omgang met deze leidraad. Ook kan worden overwogen om een helpdesk op te zetten waar men terecht kan met vragen op dit terrein. Hier kan bijvoorbeeld ondersteuning worden geboden bij: het kiezen voor een afwijkende volgorde van de stappen in het keuzesysteem, bij kiezen voor het toepassen van additionele beoordelingstechnieken, of bij de beoordeling van de testresultaten.

Een belangrijk punt bij de beoordeling van de aanwezigheid van een actueel risico is het onderbouwen van een relatie tussen de gevalsbepalende stoffen en de mate van effect zoals waargenomen met de beoordelingstechnieken. Het nut van de toepassing van biologische technieken is echter 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. De in het voorliggende onderzoek geselecteerde technieken zijn, met uitzondering van de bioaccumulatietest met oligochaeten, dan ook niet of nauwelijks stofs specifiek. Wel is het mogelijk om relaties tussen negatieve effecten en specifieke stoffen *aannemelijk* te maken en zo een ecotoxicologische indicatie te krijgen van de probleemveroorzakende stoffen. Indien het vaststellen van meer eenduidige oorzaak-gevolg-relaties gewenst is, kan de beoordeling worden vervolgd met bijvoorbeeld de toepassing van complementaire technieken (zie aanbevelingen).

Conclusies

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

- Een stapsgewijs keuzesysteem is ontwikkeld dat gericht is op de toepassing van bioassays en veldinventarisatietechnieken waarmee locatiespecifiek en kosten-effectief (het ontbreken van) een actueel ecologisch risico van waterbodemonverontreinigingen *aannemelijk* gemaakt kan worden;
- De geselecteerde beoordelingstechnieken leveren *complementaire* informatie 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.

Mede op basis van de resultaten van het voorbeeldonderzoek in de Sassenheimervaart kan ten aanzien van de toepassing van het keuzesysteem verder nog het volgende worden geconcludeerd:

- Het systeem is praktisch toepasbaar en voldoet aan de gestelde randvoorwaarden;
- Om flexibel en creatief te kunnen omgaan met de leidraad is enige expertise van de gebruiker nodig, bijvoorbeeld bij:
 - het kiezen en beargumenteren van een andere volgorde van technieken;
 - het toepassen van additionele technieken;
 - het beoordelen van de testresultaten.

- Toepassing van extra beoordelingstechnieken kan:
 - tot aanvullende inzichten leiden (actuele risico's voor nog andere stoffen, en mogelijk ook van niet gevalsbepalende stoffen);
 - het bestaan van actuele risico's verder onderbouwen;
 - oorzaken van effecten verder ophelderen;
 - meer informatie leveren om urgente gevallen te kunnen prioriteren.
- Het toepassen van *alle* geselecteerde beoordelingstechnieken (acute en chronische bioassays, bioaccumulatietest en veldinventarisatie) geeft een goed beeld van de ecotoxicologische kwaliteit van waterbodems op het moment vlak vóór de sanering. Deze informatie biedt houvast om het saneringseffect te kunnen monitoren.

Aanbevelingen

De voornaamste aanbevelingen op basis van de resultaten van de in dit rapport beschreven onderzoek luiden:

- Toepassen van het ontwikkelde keuzesysteem op meerdere locaties en verschillende bodemtypen zodat het systeem verder wordt gevalideerd en meer inzicht in de toepasbaarheid wordt verkregen;
- Organiseren van cursussen, symposia en workshops en/of het opzetten van een helpdesk om de benodigde kennis over te dragen die nodig is om flexibel en creatief met het keuzesysteem te kunnen omgaan;
- Toepassing van extra (of alle) beoordelingsstappen en/of additionele technieken overwegen wanneer het budget dit toelaat.

Verder worden nog een aantal technische aanbevelingen gedaan ten aanzien van het beoordelen van: toxische effecten, doorvergiftigingsrisico's en negatieve effecten in het veld, en worden enige aanbevelingen gedaan voor het toepassen van complementaire (nieuwe) technieken.

1 INLEIDING

1.1 Waarom ecotoxicologische risicobeoordeling van waterbodems?

De chemische analyse van een beperkt aantal verontreinigende stoffen in een waterbodem geeft geen volledig beeld van de waterbodemkwaliteit, omdat deze ook wordt bepaald door eventueel niet-geanalyseerde (afbraakprodukten van) stoffen of onbekende stoffen. Bovendien kunnen op grond van de chemische samenstelling alleen potentiële risico's van de aangetroffen verontreinigingen voor mens en milieu worden vastgesteld (door na te gaan of de gehalten van die stoffen bepaalde ecotoxicologische en/of humaan onderbouwde risicowaarden overschrijden). Voor het verkrijgen van informatie over de daadwerkelijke - actuele - risico's van de aangetroffen (en niet-geanalyseerde) verontreinigingen op een specifieke locatie moet ecotoxicologisch onderzoek worden uitgevoerd. Uit dit onderzoek, resulterend in een ecotoxicologische risicobeoordeling (zie 2.1), moet blijken in hoeverre de stoffen biologisch beschikbaar zijn en, eventueel in combinatie met andere stoffen, negatieve effecten bij water- en, als er sprake is van doorvergiftigingsrisico's, landorganismen veroorzaken.

Ecotoxicologische beoordelingssystemen kunnen worden gebruikt om op een specifieke locatie de daadwerkelijke, huidige (diagnose) en toekomstige (prognose) risico's en effecten van toxische stoffen in te schatten. Het betreft hier o.a.:

- toepassing in onderzoek dat in het kader van de Wet Bodembescherming wordt uitgevoerd;
- de beoordeling van situaties waarin verontreinigde grond wordt gebruikt voor natuurbouw;
- de beoordeling van situaties waarin baggerspecie op oevers wordt afgezet;
- de beoordeling van situaties waar kennis vereist is over de risico's voor specifieke doelsoorten.

Daarnaast vormt ecotoxicologisch onderzoek een belangrijk onderdeel in monitoringprogramma's voor het signaleren van verontreinigingen en de evaluatie van beleidsdoelstellingen. Van de Guchte *et al.* (1996) geven een overzicht van de verschillende toepassingsmogelijkheden van ecotoxicologisch onderzoek bij de beoordeling van risico's van verontreinigde waterbodems.

In hoofdstuk 2 wordt verder ingegaan op het begrippenkader behorende bij de ecotoxicologische risicobeoordeling van verontreinigde waterbodems en op bestaande beoordelingsmethoden of benaderingswijzen.

1.2 Omvang en aard regionale waterbodemverontreiniging

Met betrekking tot de verontreiniging van waterbodems zijn door de betreffende waterkwaliteitsbeheerders in de periode 1989-1994 in de regionale wateren aan bijna 8000 locaties metingen verricht. Voor de rijkswateren waren het er ruim 7000 (CUWVO, 1996). Voor de regionale en rijkswateren overschreed respectievelijk 10% en 20% van de onderzochte locaties de interventiewaarde (klasse 4). De kosten voor het saneren van alle klasse 4 locaties worden geschat op tenminste 1 miljard gulden (RMNO, 1996).

In de toplaag (0 - 20 cm diep) van de regionale wateren overschrijdt vooral zink en in mindere mate ook koper de interventiewaarde en zijn deze metalen het meest bepalend voor de classificatie van bodemonsters tot klasse 4 (bijlage 1). In min of meer gelijke mate overschrijden koper, lood, nikkel en zink de signaleringswaarde. Naast zware metalen komt in een redelijk aantal gevallen ook de som 10 PAK en minerale olie in gehalten boven de interventiewaarde voor. Op 8 locaties wordt voor de som 7 PCB's de interventiewaarde overschreden. De indeling van monsters in klasse 3 vindt vaak plaats op basis van het gehalte DDT. Daarnaast zorgen met name PAK, enkele zware metalen (koper, kwik en nikkel) en de som pesticiden voor overschrijding van de toetsingswaarde.

Voor de meeste zware metalen en de som 10 PAK worden klasse 4 verontreinigde locaties vooral in havens, kleine rivieren, kanalen, stadswateren en sloten aangetroffen (de Rooij *et al.*, 1996).

Kwik en PCB's vormen eigenlijk alleen in havens een probleem. Locaties waar de toetsingswaarde voor DDT wordt overschreden (klasse 3), bevinden zich vooral in sloten, kleine rivieren, stadswateren, kanalen en havens. In zijn algemeenheid kan worden vastgesteld dat in de regionale wateren de meeste matig tot ernstig verontreinigde locaties zich bevinden in havens, kleine rivieren en stadswateren. Meren en plassen zijn het minst vervuild.

1.3 Afbakening project

Sanering van alle klasse 4 locaties is op korte termijn niet haalbaar vanwege de hoge kosten en vanwege het ontbreken van voldoende stortlocaties. De vraag om een goede urgentiebepaling en prioriteitstelling, gebaseerd op relevante toetsingscriteria, is dan ook groot. Daarbij wordt de beoordeling van de waterbodembodemkwaliteit op basis van generieke normen ten aanzien van gehalten van stoffen als te rigide ervaren (RMNO, 1996). In dit project is een, in eerste instantie op regionale wateren toegesneden methode ontwikkeld om locatiespecifiek op eenduidige wijze de actuele ecologische risico's (en daarmee de saneringsurgentie) van ernstig verontreinigde waterbodems in te kunnen schatten. De methode is primair gericht op de risico's van stoffen die in het kader van de Wet Bodembescherming (WBB) worden gemeten en waarvan de gehalten de interventiewaarde (circulaire inwerkingtreding WBB) overschrijden. De methode richt zich dus niet op:

- het bepalen van actuele ecologische risico's van verontreinigde waterbodems waarin de aangetroffen gehalten de interventiewaarde niet overschrijden;
- het bepalen van actuele ecologische risico's van verontreinigingen die niet in de M-lijst zijn opgenomen;
- het bepalen van ecologische risico's van het op de kant afzetten van verontreinigde baggerspecie;
- de monitoring van de algehele kwaliteit van de waterbodem, ongeacht de chemische verontreinigingsgraad;
- het bepalen van actuele risico's voor de mens.

1.4 Wettelijk kader

De aanpak van gevallen van (water)bodemverontreiniging en het omgaan met verontreinigde grond is in hoofdlijnen geregeld in de (Interim)Wet Bodembescherming. De circulaire 'Inwerkingtreding saneringsregeling Wet Bodembescherming' (WBB) (december 1994, Ministerie van VROM) bevat de voornaamste bepalingen en voorlopige uitvoeringsregelingen. De inwerkingtreding van de saneringsregeling verloopt in fasen. In de volgende fase zullen de uitvoeringsregelingen een meer definitief karakter krijgen (AMvB's). Dit wettelijk kader wordt in de vorm van een stroomschema in hoofdlijnen weergegeven in figuur 1.

De resultaten van een *Oriënterend onderzoek* aan een mogelijk verontreinigde locatie kunnen aanleiding geven tot het opstellen van een saneringsprogramma. Als eerste stap van een dergelijk programma wordt een zogenaamd *Nader onderzoek* uitgevoerd, dat zo nodig wordt gevolgd door een *prioritering* van de urgente gevallen en daarna door een saneringsonderzoek en sanering. Voor het uitvoeren van een Oriënterend onderzoek en het eerste deel van een Nader onderzoek (beoordeling ernst van de verontreiniging) zijn inmiddels voor alle onderzoeksgevallen protocollen ontwikkeld (Ministerie van VROM, 1994). Het doel van een Nader onderzoek is vast te stellen in hoeverre er bij het huidige gebruik sprake is van een bedreiging (actueel risico) voor de volksgezondheid en voor het milieu.

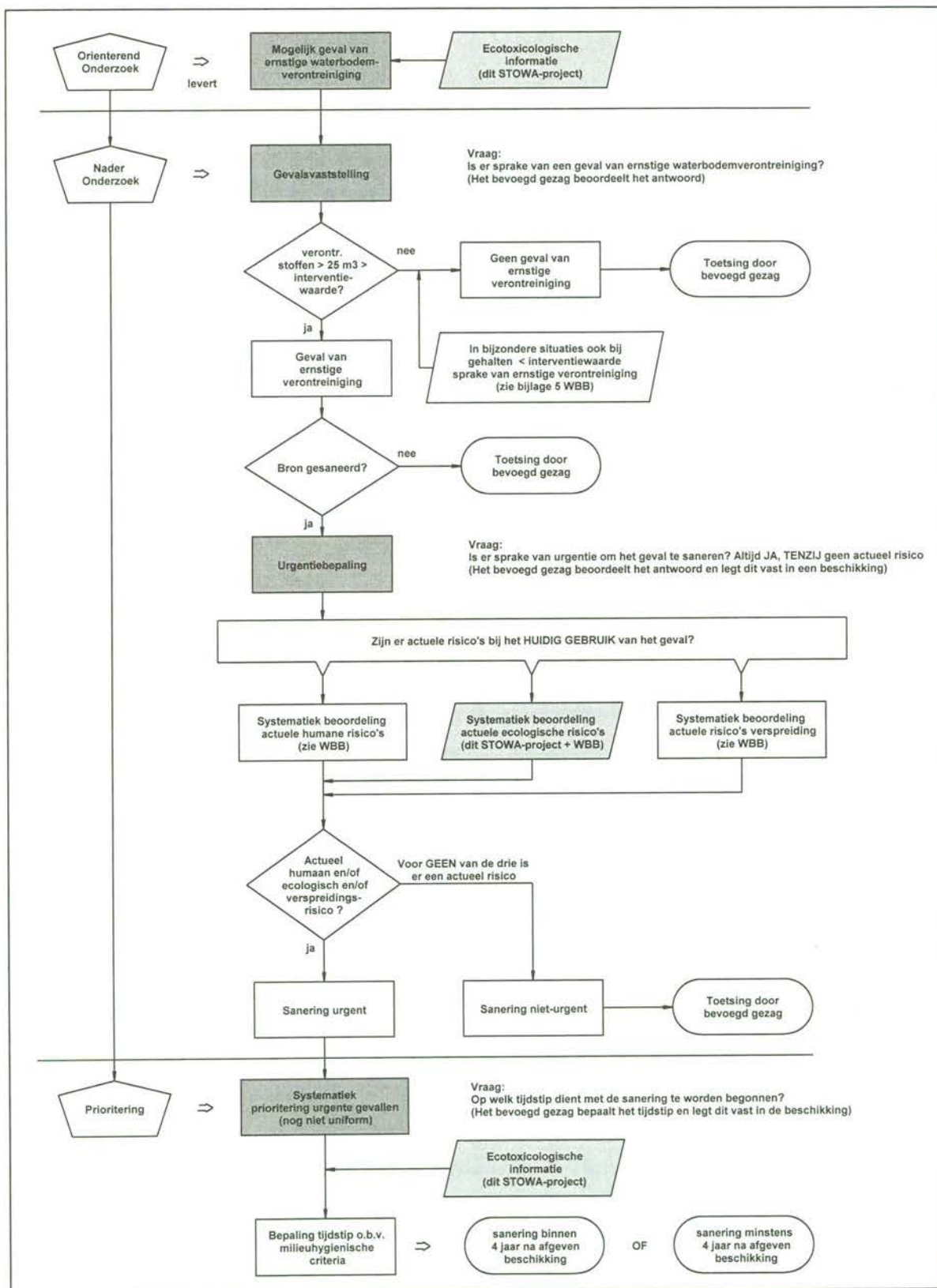


Fig. 1 Wettelijk kader, geëxtraheerd uit de 'Circulaire inwerkingtreding saneringsregeling Wet Bodembescherming (WBB)' (Ministerie van VROM, 1994).

Nader onderzoek

In het eerste deel van het Nader onderzoek wordt de ernst van de verontreiniging vastgesteld (gevals vaststelling) aan de hand van de aard, omvang, en gehalte van de verontreiniging. De resultaten van dit onderzoek worden doorgegeven aan, en getoetst door het bevoegd gezag. Er is sprake van een geval van ernstige verontreiniging indien het gemiddelde gehalte van een verontreinigende stof in minimaal 25 m³ grond of 100 m³ grondwater hoger is dan de interventiewaarden van de betreffende stof (Ministerie van VROM, 1994). Bij deze gehalten wordt verondersteld dat de (water)bodem zodanig is, of dreigt te worden verontreinigd, dat de functionele eigenschappen die deze bodem heeft voor mens, plant of dier, ernstig zijn of dreigen te worden verminderd. Het bevoegd gezag legt in dit geval in een beschikking vast dat er sprake is van een 'geval van ernstige (water)bodemverontreiniging'.

In een dergelijk geval dient de vervolgstap te worden gezet en moet door het bevoegd gezag een besluit worden genomen over de saneringsurgentie (ja of nee). Deze vervolgstap is alleen zinvol als de bron van de verontreiniging is gesaneerd. Indien hiervan (nog) geen sprake is, dan wordt het geval overgedragen aan het bevoegd gezag met het voorstel om eerst deze sanering af te wachten ('pas op de plaats'-principe).

Als de bron daadwerkelijk is gesaneerd en er een geval van ernstige waterbodemverontreiniging is vastgesteld, dan worden vervolgens in het tweede deel van het Nader onderzoek de actuele risico's van de aanwezige verontreiniging via een stapsgewijze benadering ingeschat voor een drietal thema's, namelijk volksgezondheid, ecosysteem en verspreiding. Voor dit gedeelte van het Nader onderzoek zijn voor de waterbodem bouwstenen voor op te stellen protocollen beschreven door het RIZA (van Steenwijk *et al.*, 1991)³. De volgorde waarin de drie thema's worden onderzocht is willekeurig; als uit de beoordeling van een van deze thema's duidelijk blijkt dat er een actueel risico bestaat bij het huidige gebruik, dan kan dit direct aan het bevoegd gezag worden voorgelegd. Het bevoegd gezag legt dan in een beschikking vast dat de sanering urgent is. Het Nader onderzoek hoeft dan geen verdere invulling meer te krijgen.

*In de huidige, in de Leidraad Bodembescherming vastgelegde beoordelingssystematiek is de sanering van een verontreinigde waterbodemplaatje altijd **URGENT, TENZIJ** er geen actuele risico's bestaan voor de volksgezondheid, het ecosysteem en verspreiding van de aangetroffen verontreiniging.*

Bij veel gevallen van waterbodemverontreiniging kan aannemelijk worden gemaakt dat er geen actuele humane of verspreidingsrisico's bestaan. In deze gevallen kan alleen via een ecotoxicologische risicobeoordeling tot het oordeel 'niet urgent' worden gekomen. Als uit deze beoordeling blijkt dat er ook geen actuele risico's bestaan voor het ecosysteem dan kan het betreffende geval door het bevoegd gezag als 'niet urgent' worden beoordeeld. Dit betekent dat de vervolgstap, te weten het saneringsonderzoek en de sanering, voorlopig niet hoeft te worden gezet. De beoordeling 'niet urgent' wordt door het bevoegd gezag in een beschikking vastgelegd. Het uitvoeren van ecotoxicologisch onderzoek kan zo een aanzienlijke kostenbesparing betekenen voor de waterbeherende instantie.

Uit bovenstaande blijkt dat het volgens de WBB in geen enkel geval verplicht is om de beoordeling met behulp van biologisch onderzoek te onderbouwen. Er wordt wel gesteld dat de systematiek nog niet volledig is uitgewerkt wat betreft de omgang met veldinformatie over ecologische risico's.

³ De in deze nota voorgestelde benaderingswijze wordt momenteel door het RIZA geactualiseerd, aangevuld en afgestemd op de huidige regelgeving. Het resultaat hiervan kan worden gezien als een eerste aanzet voor het onderdeel 'waterbodems' in de ministeriële regeling voor het Nader onderzoek. Voor het voorliggende rapport is aangesloten bij de daarin voorgestelde beoordelingssystematiek en de plaats die de ecotoxicologische risicobeoordeling daarin inneemt.

Zeker voor waterbodems, zo wordt gesteld, zal het bevoegd gezag steeds vaker tot de conclusie komen dat de systematiek niet of slechts ten dele toepasbaar is.

Prioritering urgente gevallen

Indien in een beschikking wordt vastgelegd dat de sanering urgent is, dan dient een tijdstip te worden bepaald waarop met de sanering moet worden begonnen. De bepaling van dit tijdstip vindt plaats op basis van milieuhygiënische criteria en andere aspecten. Wellicht is hierbij ook ecotoxicologische informatie bruikbaar. Voor deze tijdstipbepaling bestaat echter nog geen uniforme systematiek. Op initiatief van het Interprovinciaal Overleg (IPO) wordt hier wel al aan gewerkt. Door het bevoegd gezag wordt uiteindelijk in een beschikking vastgelegd of met de sanering binnen 4 jaar, of minstens 4 jaar na afgeven van deze beschikking dient te worden begonnen. Urgente gevallen worden op deze manier dus geprioriteerd.

1.5 Doelstelling

Doelstellingen van het Stowa-project 'Ecotoxicologische risicobeoordeling van verontreinigde waterbodems' zijn:

- Onderzoek naar de toepasbaarheid van (onderdelen van) bestaande ecotoxicologische beoordelingssystematieken in onderzoek dat door (regionale) waterkwaliteitsbeheerders in het kader van de (Interim)Wet Bodembescherming wordt verricht;
- De ontwikkeling van een ecotoxicologische beoordelingssystematiek die in verschillende fasen van het saneringstraject voor verontreinigde waterbodemlocaties kan worden ingezet.

Meer specifiek gaat het om de ontwikkeling van een methodiek voor de locatiespecifieke beoordeling van ecologische risico's van matig tot ernstig verontreinigde waterbodems. Deze dient zodanig te zijn vormgegeven dat direct kan worden aangesloten bij de systematiek van de (Interim)Wet Bodembescherming. De methodiek kan worden ingezet:

- Bij de invulling van de route 'sanering is **URGENT, TENZIJ ...**' (zie 1.3):
De te ontwikkelen systematiek richt zich hierbij op het aannemelijk maken van de **AFWEZIGHEID** van ecotoxicologische risico's en/of effecten van de aangetroffen verontreiniging(en) en niet - zoals dat voorheen het geval was - op de waarschijnlijke aanwezigheid ervan;
- In de fase voorafgaand aan een Nader onderzoek:
Hierbij gaat het om de bepaling van de mate van het ecotoxicologische risico van diverse potentieel saneringsurgente waterbodemlocaties. Dit is een mogelijke additionele stap op (of vervanging van) de chemische analyses die worden uitgevoerd in het Oriënterend onderzoek;
- In de fase volgend op een Nader onderzoek:
Hierbij gaat het om de bepaling van de mate van het ecotoxicologische risico van diverse saneringsurgente waterbodemlocaties, op basis waarvan een ranking van locaties of prioritering tot sanering mogelijk is.

Randvoorwaarden bij de te ontwikkelen systematiek zijn 'toepasbaarheid in regionale wateren' en 'kosten-effectiviteit'.

Het doel van dit onderzoek is niet om een 'kookboek' aan te bieden waarin standaardrecepten voor het bepalen van ecotoxicologische risico's van verontreinigde waterbodems worden beschreven. Getracht wordt om de waterkwaliteitsbeheerder een leidraad aan te reiken voor de omgang met deze materie. Het is dus zeker niet de bedoeling om hiermee andere methodieken te diskwalificeren.

1.6 Leeswijzer

In hoofdstuk 2 worden de relevante begrippen die zijn verbonden aan de ecotoxicologische beoordeling van waterbodems toegelicht en worden enkele bestaande (inter)nationale beoordelingsmethodieken beknopt beschreven.

In hoofdstuk 3 wordt ingegaan op de ervaring van de Nederlandse waterkwaliteitsbeheerders met de ecotoxicologische risicobeoordeling van waterbodems en worden hun wensen ten aanzien van een te ontwikkelen methode weergegeven. De mede hieruit voortvloeiende randvoorwaarden ten aanzien van deze methode, en het daarop gebaseerde basisontwerp worden beschreven in hoofdstuk 4.

De hoofdstukken 5 en 6 bevatten de onderbouwing voor hoofdstuk 7, het hart van het rapport. In hoofdstuk 5 wordt de selectie van beoordelingstechnieken, waaruit het keuzesysteem is opgebouwd, toegelicht en onderbouwd en worden een aantal technische aspecten ten aanzien van de toepassing van deze technieken besproken. In de bijlagen 7 t/m 18 worden deze aspecten in detail en per techniek apart beschreven. In hoofdstuk 6 wordt ingegaan op de specifieke (on)mogelijkheden van iedere beoordelingstechniek en wordt stilgestaan bij enkele aanvullende technieken en toekomstige ontwikkelingen.

Hoofdstuk 7 bevat de leidraad (keuzesysteem) waarmee, als onderdeel van het Nader onderzoek, (het ontbreken van) een actueel eco(toxico)logisch risico kan worden beoordeeld (7.1). Een uitklapversie van dit keuzesysteem is achter in het rapport opgenomen (achter de bijlagen). In hoofdstuk 8 wordt aan de hand van een praktijkvoorbeeld (Sassenheimervaart) gedemonstreerd hoe in de praktijk met het keuzesysteem kan worden omgegaan. In paragraaf 7.2 en 7.3 worden achtereenvolgens aanbevelingen gedaan voor het toepassen van ecotoxicologisch onderzoek in het Oriënterend onderzoek en bij de prioritering van urgente saneringsgevallen.

Het tekstuele deel van het rapport wordt afgesloten met de discussie, conclusies en aanbevelingen (hoofdstuk 9), waarna een begrippenlijst (10), de literatuurverwijzingen (11) en de bijlagen dit rapport completeren.

2 BEGRIPPEN EN BESTAANDE METHODEN

2.1 Begrippenkader

In de inleiding zijn reeds een aantal basisbegrippen genoemd die horen bij een ecotoxicologische risicobeoordeling van verontreinigde waterbodems. Deze en enkele aanvullende, relevante begrippen worden hierna verder toegelicht.

2.1.1 Ecotoxicologische risicobeoordeling van waterbodems

Waterbodem

“De waterbodem omvat de onder het oppervlaktewater aanwezige bodems. De waterbodem heeft een aantal belangrijke functies in het ecosysteem. Naast een structurerende functie is de afbraak-, voedsel-, conserverende-, filter- en refugiumfunctie van belang. Op grote schaal wordt de waterbodem om nautische, hydrologische of milieukundige redenen verwijderd.” (RMNO, 1996).

Ecotoxicologie

De ecotoxicologie is het vakgebied waarin de effecten van gifstoffen op planten, dieren en micro-organismen worden bestudeerd. Gifstoffen zijn potentieel schadelijke stoffen in het milieu, die door menselijk toedoen in het water, de bodem of de lucht terechtgekomen zijn. Binnen de ecotoxicologie zijn de volgende drie disciplines geïntegreerd (van Straalen & Verkleij, 1991):

- Milieuchemie:
Om het effect van stoffen op ecosystemen te onderzoeken, wordt informatie verzameld over het voorkomen van chemicaliën in het milieu, de verdeling over de milieucompartmenten water, (water)bodem en lucht, en de effecten van chemisch-fysische factoren, zoals pH en temperatuur op het gedrag van stoffen;
- Toxicologie:
Op het niveau van individuele organismen wordt bestudeerd op welk orgaan en via welk werkingsmechanisme een toxische stof invloed heeft;
- Ecologie:
Het derde vakgebied, de ecologie, fungeert als basis voor de ecotoxicologie, omdat de effecten op een ecosysteem centraal staan. Daarom is kennis nodig over de levenscycli van organismen, de natuurlijke factoren die populaties reguleren of beperken, de genetische variatie in een populatie en de rol die een organisme vervult in kringloopprocessen.

Risicobeoordeling

Risico is het produkt van de kans op blootstelling van een organisme aan een bepaalde giftstof en de kans dat bij die blootstelling een bepaald (negatief) effect optreedt. Bij risicobeoordeling bestaan er twee sporen:

- Prognose (beoordeling vooraf);
- Diagnose (beoordeling achteraf).

Prognose

Op basis van de resultaten van toxiciteit- of stoffentesten (zie begrippenlijst) worden, eventueel na toepassing van veiligheidsfactoren bij gebrek aan data, de concentratie- of gehaltegrenzen vastgesteld vanaf waar negatieve effecten van gifstoffen worden vermoed. Bij het vaststellen van deze grenzen wordt getracht in te schatten aan welke fractie de organismen daadwerkelijk worden blootgesteld. Dit is de zogenaamde biologisch beschikbare fractie, waarover later meer. Bij deze inschatting wordt uitgegaan van een *generieke* (algemeen geldende) situatie.

Deze prognostische benadering is vooral beleidsmatig bruikbaar om normen te kunnen stellen aan de gehalten/concentraties waarin gifstoffen mogen voorkomen in water, (water)bodem en lucht. Bij overschrijding van de gestelde norm bestaat de mogelijkheid dat negatieve effecten optreden. De prognostische benadering leidt derhalve tot het vaststellen van *potentiële risico's*.

Diagnose

Bij de diagnostische risicobeoordeling wordt in een *specifieke* verontreinigingssituatie, waar gifstoffen reeds in het milieu terecht zijn gekomen, beoordeeld of er op dat moment daadwerkelijk risico's bestaan, of reeds negatieve effecten waarneembaar zijn. De diagnostische benadering leidt derhalve tot een vaststelling van *actuele risico's* (zie hierna). In dit geval kan rekening worden gehouden met de locatiespecifieke omstandigheden waardoor een betere dan de generieke risicobeoordeling mogelijk is.

Actueel ecologisch risico

Volgens de Wet Bodembescherming (WBB) is er sprake van een geval van ernstige (water)bodemverontreiniging indien de functionele eigenschappen⁴ die een (water)bodem heeft voor plant of dier ernstig, of dreigend ernstig is verminderd. Dit is volgens de WBB het geval indien de gehalten van verontreinigende stoffen boven de interventiewaarden liggen en daardoor bij meer dan 50% van de in het ecosysteem aanwezige soorten negatieve effecten worden *verwacht*. In dit soort gevallen is er “*altijd een actueel ecologisch risico TENZIJ de hoogte van de gemeten gehalten en omvang (oppervlakte en/of lengte) van de verontreiniging te gering zijn om gezien het gebiedstype ernstige ecologische effecten te veroorzaken*” (VROM, 1994).

Deze WBB-benadering is generiek en gaat uit van verwachte en dus potentiële risico's. Deze benadering maakt onvoldoende gebruik van de locatiespecifieke omstandigheden. Bovendien wordt meestal slechts een beperkt aantal stoffen gemeten. Daarom werd in de inleiding (zie 1.1) voorgesteld om het bestaan van actuele risico's ecotoxicologisch te beoordelen.

Ecotoxicologische risicobeoordeling

Onder het begrip ‘ecotoxicologische risicobeoordeling’ wordt in deze rapportage verstaan dat naast fysisch/chemische paramaters ook op basis van de daadwerkelijke meting van lokale, biologische parameters wordt beoordeeld of waterbodembesmettingen resulteren in (potentieel) negatieve effecten voor organismen. In deze diagnostische benadering wordt informatie vanuit meerdere gezichtspunten vergaard waardoor sprake is van een *integrale benadering*. In de volgende paragraaf wordt hier dieper op ingegaan.

Biologische beschikbaarheid

De biologisch beschikbare fractie van een stof is het deel van deze stof in water of (water)bodem 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 zoals: blootstellingsduur, temperatuur, pH, redoxpotentiaal, (zwevende) organische stofgehalte, saliniteit, kat- en anionuitwisselcapaciteit, microbiële activiteit (afbraak), oppervlakte-inhoud-ratio van organismen, (consumptie)gedrag, voedingstoestand, leeftijd etc. (van Leeuwen & Hermens, 1995). 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.

Het concept ‘biologische beschikbaarheid’ wordt goed geïllustreerd aan de hand van het volgende praktijkvoorbeeld (van Gerven, 1995). In een tweetal experimenten wordt het effect van koper op algen bestudeerd. In het ene experiment (A) wordt de groei van algen gevolgd in water dat verrijkt

⁴ De laatste tijd wordt steeds meer aangedrongen op het loslaten van het multifunctionaliteitsprincipe en uit te gaan van de locatiespecifieke functie van de betreffende waterbodembodem (*functiegericht*).

is met varkensmest. In het tweede experiment (B) wordt in plaats van varkensmest een hoeveelheid koper aan het water toegediend die een factor 10 lager is dan het gehalte in de mest. In experiment B sterven alle algen terwijl in experiment A geen enkel effect kan worden waargenomen. De potentieel toxische hoeveelheid koper is in experiment A gebonden aan de organische stoffen in de mest en kennelijk niet beschikbaar voor opname door de algen.

2.1.2 Integrale benadering

Algemeen wordt erkend dat een eco(toxico)logische beoordeling van verontreinigde waterbodems alleen afdoende kan worden uitgevoerd indien, aanvullend op *chemische analyses*, een batterij van testorganismen (*bioassays*) wordt ingezet en verschillende veldparameters (*veldinventarisatie*) worden bestudeerd (Burton, 1992). Een integrale ecotoxicologische beoordelingsmethode bevat onderdelen uit deze drie beoordelingscomponenten. De biologische componenten 'bioassays' en 'veldinventarisatie' geven hierbij respectievelijk inzicht in de potentiële en actuele effecten en de chemische component geeft inzicht in de mogelijke oorzaken. Elk van de beoordelingscomponenten levert *complementaire informatie* (zie tabel 1). Een vergelijkbaar antwoord uit verschillende componenten leidt tot een gefundeerder oordeel over de toestand van de waterbodem ('preponderance / burden of evidence').

Algemeen wordt ook erkend dat er niet één enkele methodiek bestaat waarmee in een keer al de gevolgen van sedimentverontreiniging voor organismen kunnen worden gemeten en beoordeeld. Specifieke beoordelvragen vragen om specifieke benaderingswijzen. Soms is het zelfs raadzaam om meerdere complementaire methodieken toe te passen (US EPA, 1992). Volgens Chapman (1995) zou moeten worden uitgegaan van een 'gereedchapskist met gereedschap'. Het selecteren van de juiste stukken gereedschap (beoordelingstechnieken, zie tabel 1) voor een specifieke situatie is echter lastig.

Tabel 1 Componenten en technieken voor de beoordeling van de kwaliteit van waterbodems. Het overzicht is onder andere gebaseerd op Burton (1992).

Beoordelings-componenten:	Beoordelingstechnieken:	Geeft informatie over:
Chemie (C)	Fysische en chemische analyse sediment	Bodemtype, aanwezigheid van specifieke toxische stoffen en verontreinigingsgraad.
Bioassays (B)	Lab- en veldbioassays (maar ook biomarkertesten, mutageniteitstesten etc.)	Potentiële (lab) en actuele (veld) toxiciteit van de aanwezige verontreinigingen. Informatie is echter meestal niet stofspecifiek.
	Bioaccumulatie testen: actief* en passief**	Doorvergiftigingsrisico en biologische beschikbaarheid van specifieke stoffen
Veldinventarisatie (V)	Analyse samenstelling en abundantie bodemdierengemeenschap	Ecologische kwaliteit. Informatie is echter niet stofspecifiek.
	Beoordeling van afwijkingen of misvormingen bij bodemorganismen	Aanwezigheid van verontreinigingen die pathologische effecten*** veroorzaken.

*: actief: geselecteerde testorganismen worden gedurende een bepaalde periode in het lab of in het veld blootgesteld aan het verontreinigde sediment waarna de interne gehalten aan verontreinigende stoffen worden gemeten;

** : passief: in het veld aanwezige organismen worden verzameld waarna de interne gehalten aan verontreinigende stoffen worden gemeten;

***: pathologische effecten: door ziekte veroorzaakte veranderingen in cellen, weefsels of organen.

Lab- en veldbioassays

Voor deze studie worden lab en veldbioassays gedefinieerd als experimenten waarin bepaalde organismen respectievelijk in het lab of in het veld worden blootgesteld aan een (extract van een) te beoordelen waterbodem(monster). Het doel van bioassays is het beoordelen of de aanwezige verontreinigingen in de waterbodem in die mate beschikbaar zijn dat ze negatieve effecten veroorzaken bij deze testorganismen. Een negatief effect is bijvoorbeeld de remming van de groei of reproductie of in het uiterste geval sterfte (Brils & den Besten, 1995). De in bioassays gehanteerde parameters zijn representatief voor organismen in het veld, voldoende onderscheidend, eenvoudig te meten, reproduceerbaar en relatief goedkoop en toepasbaar (van de Guchte *et al.*, 1996).

Testbatterij bioassays

Uit toxiciteitstesten (zie begrippenlijst) blijkt dat tussen verschillende soorten testorganismen grote verschillen in gevoeligheid voor specifieke toxicanten bestaan. Daarnaast kan de biologische beschikbaarheid (zie 2.1.1) van stoffen in waterbodems aanzienlijk verschillen tussen deze organismen. In de praktijk kan dit betekenen dat de in theorie 'gevoeligste' soort (zie begrippenlijst) géén en de minder gevoelige soort wél een negatief effect laat zien in bioassays. Met name in situaties waar een complex mengsel van verontreinigingen in de waterbodem aanwezig is, is het om deze twee redenen zeer lastig om te voorspellen welke bioassay het meest gevoelig zal zijn. In dergelijke situaties wordt in het algemeen aanbevolen om een testbatterij met verschillende bioassays toe te passen.

De samenstelling van een dergelijke set van verschillende technieken (*testbatterij*) is afhankelijk van het doel van het onderzoek. Om financiële redenen is het logisch om voor elk van de toepassingen een minimumset te definiëren (Brils & den Besten, 1995). Hiervoor wordt aanbevolen om testorganismen te selecteren die taxonomisch zo ver mogelijk van elkaar af staan, omdat taxonomisch nauw verwante soorten wat betreft gevoeligheid op elkaar lijken. Verder wordt aanbevolen om soorten te selecteren die op een verschillende manier hun voedsel verwerven (verschillende trofische niveaus) of via verschillende relevante routes worden blootgesteld aan de verontreinigingen (van Straalen & Verkleij, 1991; van Straalen & van Gestel, 1993). Naast deze wetenschappelijke criteria spelen ook ethische vragen (bij voorkeur gebruik van lagere diersoorten) en zaken van praktische aard een grote rol bij de keuze van testorganismen, zoals de beschikbaarheid van de organismen (makkelijk te kweken of verkrijgen), de handelbaarheid (goede overleving in voorraad of kweek, makkelijk te manipuleren), beschikbaarheid van voldoende wetenschappelijke achtergrondinformatie, tolerantie voor de variatie in fysische en chemische eigenschappen van het te beoordelen monster en de beschikbaarheid van een goede testmethode (Hill *et al.*, 1993). Daarnaast zijn zaken als onderscheidend vermogen, testduur (lieft niet te lang) en kosten van belang.

Veldinventarisatie

In deze studie wordt onder een veldinventarisatie verstaan het analyseren van de samenstelling en/of het bepalen van de dichtheden en/of het beoordelen op afwijkingen of misvormingen van bodemorganismen. Met een veldinventarisatie kunnen daadwerkelijk (actueel) negatieve effecten in het veld worden aangetoond. De resultaten van een veldinventarisatie geven daarmee een direct inzicht in de ecologische kwaliteit van de waterbodem. Voor een betrouwbaar inzicht in deze kwaliteit is het echter nodig om meerdere parameters te bestuderen. Om een relatie te kunnen leggen met de aanwezige verontreinigingen is een grondig inzicht in de bodemkarakteristieken nodig omdat bodemkarakteristieken in hoofdzaak bepalend zijn voor de samenstelling van de macrofauna. Daarom is het zeer belangrijk om een geschikte *referentielocatie* in elk onderzoek mee te nemen. Geconstateerde verschillen kunnen dan veel makkelijker worden gerelateerd aan de aanwezige verontreinigingen. Een ideale referentielocatie is exact vergelijkbaar met de verontreinigde locatie, alleen de mate van verontreiniging is beduidend lager en bij voorkeur klasse 0 of 1.

2.2 Bestaande ecotoxicologische beoordelingsmethoden

Internationaal zijn diverse benaderingswijzen voor beoordeling van verontreinigde waterbodems gangbaar. Overzichten en/of beschrijvingen hiervan worden o.a. gegeven in US EPA (1992), Burton (1992), Zimmer (1993), de Cooman (1995) en Munawar & Dave (1996). Gezien de afbakening van dit onderzoek (zie 1.3) worden in tabel 2 uitsluitend de methoden die zijn gericht op een locatiespecifieke beoordeling ('In-Place Pollutant Control') van zoete waterbodems en uitgaan van de daadwerkelijke toepassing van ecotoxicologisch onderzoek (meten biologisch parameters) weergegeven en daarna beknopt beschreven.

Tabel 2 Bestaande methoden voor de ecotoxicologische beoordeling van verontreinigde waterbodems (Veldinv. = veldinventarisatie).

Methode of benaderingswijze:	Beoordelingscomponenten:			O.a beschreven in:
	Chemie	Bioassays	Veldinv.	
1. 'Bulk Sediment Toxicity Test'	mogelijk	ja	nee	US EPA, 1992
2. 'Interstitial Water Toxicity Identification Evaluation'	ja	ja	nee	US EPA, 1992
3. 'Freshwater Benthic Macroinvertebrate Community Structure and Function'	ja	nee	ja	US EPA, 1992
4. 'Sediment Quality Triad' (Triade)	ja	ja	ja	US EPA, 1992
5. 'Multi Criteria Analyse' (MCA)	mogelijk	mogelijk	mogelijk	den Besten <i>et al.</i> , 1995
6. 'Tiered Testing'	mogelijk	mogelijk	mogelijk	Burton <i>et al.</i> , 1992
7. 'International Joint Commission Sediment Assessment Strategy'	ja	ja	ja	US EPA, 1992

1. 'Bulk Sediment Toxicity Test' (BSTT)-benadering

Volgens deze benadering worden meerdere soorten testorganismen (om een brede range van gevoeligheden te garanderen) in het laboratorium blootgesteld aan in het veld bemonsterd sediment. Aangenomen wordt dat het gedrag van stoffen in deze monsters hetzelfde is als in de 'natuurlijke' *in situ* sedimenten. De fysisch/chemische samenstelling hoeft niet bekend te zijn. Na een bepaalde blootstellingsduur worden diverse biologische eindpunten bestudeerd (bijv. mortaliteit, groei, reproductie, ontwikkeling etc.). De resultaten worden daarna statistisch vergeleken met een controle en een referentiesediment waarna de toxiciteit wordt ingeschat. Op basis hiervan wordt voorspeld (prognose) of het sediment schadelijk is voor bentische organismen. De methode kan worden gebruikt voor alle typen sediment (soms is het type sediment echter beperkend voor de keuze van geschikte testorganismen) en verontreiniging. De methode geeft geen inzicht in oorzaak-gevolg-relaties omdat de toxiciteit van alle verontreinigingen tezamen wordt gemeten. De methode wordt in de Verenigde Staten o.a. gebruikt voor het ruimtelijk afbakenen van toxiciteit in geval van verontreinigingsgradiënten, voor het identificeren van 'hot-spots' ten behoeve van verder onderzoek, en voor het bepalen van de grenzen tot waar gesaneerd moet worden (toxisch/niet toxisch).

2. 'Interstitial Water TIE (Toxicity Identification Evaluation)'-benadering

Volgens deze benaderingswijze wordt de toxiciteit van poriewater beoordeeld op de volgende wijze:

- Wining van poriewater uit sedimentmonsters:
Poriewater wordt gewonnen uit het sediment d.m.v. bijvoorbeeld uitpersen of centrifugeren;
- Beoordeling poriewater m.b.v. bioassays:
Diverse testorganismen worden in het laboratorium blootgesteld aan het poriewater om de eventuele toxiciteit te kwantificeren;
- Toepassing van TIE-procedure op toxisch poriewater:
Het doel van TIE (Toxicity Identification Evaluation) is om op een snelle en goedkope wijze te identificeren welke fractie(s) van het poriewater en zo nodig welke specifieke stoffen in deze fractie verantwoordelijk zijn voor het toxische effect. Diverse technieken zijn beschikbaar om het poriewater te fractioneren. Omdat er aanzienlijk minder stoffen in deze fracties aanwezig zijn dan in het originele poriewater is het veel gemakkelijker om in de toxische fracties te zoeken (fysisch/chemisch via een aantal fasen) naar de specifieke componenten en/of stoffen die verantwoordelijk zijn voor de gemeten toxiciteit.

Deze benaderingswijze kan worden toegepast op ieder sediment waaruit voldoende poriewater kan worden gewonnen en wordt gezien als een krachtig instrument voor een locatiespecifieke beoordeling omdat de oorzaak-gevolg-relaties eenduidig kunnen worden vastgesteld. Op basis hiervan kunnen adequate saneringsplannen worden uitgewerkt en kan het effect van saneringsoperaties beter worden gemonitord (alleen toxiciteit monitoren van de toxische poriewaterfractie). Nadeel van deze benaderingswijze is dat in zeer complexe verontreinigingssituaties de kosten voor met name de TIE-procedure behoorlijk kunnen oplopen. Verder nadeel is dat alleen de opnameroute van toxicanten via poriewater wordt bestudeerd.

3. 'Freshwater Benthic Macroinvertebrate Community Structure and Function'-benadering

De benthische macrofaunasamenstelling is gevoelig voor zowel korte als lange termijn veranderingen in habitat en in sediment- en waterkwaliteit. Na een veldinventarisatie van de macrofauna op een bepaalde locatie wordt inzicht verkregen in deze samenstelling en zo in de structuur van de levensgemeenschap. Op basis hiervan kan iets worden gezegd over de kwaliteit van de betreffende waterbodem. Deze benaderingswijze omvat o.a. de volgende stappen:

- Bemonstering van benthische macrofauna (van kunstmatig of natuurlijk substraat);
- Scheiding organismen van overig materiaal;
- Determinatie van de organismen tot op het gewenste taxonomische niveau;
- Bewerking data tot gewenst niveau (bijv. tellen aantal soorten, berekening dichtheden, berekening indexen, berekening ratio's etc.);
- Beoordeling van de gevonden resultaten in relatie tot de locatiespecifieke omgevingsfactoren. Hiervoor zijn gegevens nodig over de fysisch/chemische kwaliteit van de waterbodem (fysisch/chemische analyse);
- Vergelijking van de resultaten met lokale of regionale referentielocaties;
- Beoordeling van de kwaliteit van de onderzochte locatie op basis van bovenstaande analyse.

Deze benaderingswijze is zeer gangbaar en wordt routinematig toegepast (voor verwijzingen naar internationale toepassingen zie US EPA, 1992). Vaak biedt deze benadering het belangrijkste stukje informatie over de sedimentkwaliteit. Het beste resultaat wordt verkregen door deze benadering te combineren met een benadering die gericht is op het beoordelen van de toxiciteit van het sediment (uitvoering bioassays). Deze driedelige combinatie van veldinventarisatie, chemie en bioassays wordt aangeduid als de 'Triade' benadering (zie volgende methode).

4. 'Sediment Quality Triad'-benadering (US EPA, 1992)

De 'Triade'-benadering is internationaal een zeer gangbare methode voor de locatiespecifieke, ecotoxicologische beoordeling van verontreinigde waterbodems. In Nederland is deze benadering zelfs de meest gangbare. Een beschrijving hiervan wordt daarom gegeven in de volgende paragraaf.

5. 'Multi Criteria Analyse (MCA) '-benadering

Volgens de MCA-benadering wordt informatie uit diverse richtingen verzameld. Ieder stukje informatie (criterium of parameter) krijgt een eigen (gewogen) score, waarna de score over alle criteria/parameters wordt geïntegreerd tot één eindscore, die als maat voor de gevonden effecten of risico's kan worden gebruikt (den Besten *et al.*, 1995; van de Guchte *et al.*, 1996). De keuzes voor input van bepaalde parameters/criteria (biologische en/of chemische) en de toekenning van wegingsfactoren staat vrij aan de beoordelaar. De keuzes dienen echter wel steeds te worden onderbouwd net als en de keuze voor de maatlatten voor de scores (bijv. van 1 'slecht/hoog risico' tot 0 'goed/geen risico'). MCA maakt het mogelijk om een duidelijke rangorde tussen risicolocaties (prioritering) aan te geven. Ook voor het monitoren van saneringen (vergelijking uitgangssituatie met situatie tijdens en na sanering) kan het een bruikbare benadering zijn. Nadeel van deze benadering is echter dat heel veel gevraagd wordt van het inzicht ('expert judgement') van de beoordelaar (onderbouwing keuzes etc.). De MCA-benadering kan als tweede beoordelingsstap, gericht op de prioritering van urgente gevallen (zie 1.4), worden toegepast op locaties waar met behulp van de Triade-benadering een relatie is aangetoond tussen de sedimentverontreiniging en effecten op macrofauna en in bioassays. Beide benaderingswijzen zijn in Nederland naast elkaar gebruikt bij de beoordeling van de Nieuwe Merwede, Biesbosch en Hollandsch Diep (den Besten *et al.*, 1995).

6. 'Tiered Testing'-benadering

Kernwoord in deze 'tiered'-(getrapte)-benadering is kosten-effectiviteit. Dit wordt gerealiseerd door verschillende parameters (biologische en/of chemische) niet gelijktijdig, maar stapsgewijs na elkaar te meten. Na iedere stap wordt beoordeeld of voldoende informatie beschikbaar is om de specifieke beoordelingsvraag te kunnen beantwoorden: zo ja, dan wordt gestopt, zo nee, dan wordt de beoordeling vervolgd door het meten van (een set van) aanvullende parameters.

7. 'International Joint Commission (IJC) Sediment Assessment Strategy ('IJC'-benadering)

De IJC heeft een document gepubliceerd onder de titel "Procedures for the assessment of contaminated sediment problems in the Great Lakes" (International Joint Commission, 1988). Dit document is bedoeld als een richtlijn voor de locatiespecifieke beoordeling van gebieden waar mogelijk op (zeer) grote schaal gesaneerd moet worden (baaien, havens, rivieren, grote sedimentatiegebieden). De nadruk in de benadering wordt gelegd op biologische monitoring. De complete 'IJC'-benadering is eigenlijk een zeer omvangrijke 'Triade'-benadering. Afgezet tegen de totale kosten van de saneringsmaatregelen, worden de kosten voor de toepassing hiervan als acceptabel beschouwd. Met behulp van de 'IJC'-benadering kan sedimentverontreiniging als probleembron worden geïdentificeerd, kunnen effecten worden gespecificeerd, kan een rangorde in de mate van ernst van de problemen worden gegeven (prioritering) en de verkregen informatie kan worden gebruikt bij de selectie van saneringstechnieken.

De methode is onderverdeeld in twee fasen. Fase I is gericht op het verzamelen van de minimale hoeveelheid informatie die nodig is om potentieel problematische locaties te identificeren (en is dus in wezen een 'Tiered'-benadering: zie vorige benaderingswijze). Voor deze fase worden diverse fysisch/chemische metingen (o.a. korrelgroottefracties, watergehalte, redoxpotentiaal, pH, organisch koolstof, fosfaat, 10 metalen, persistente organische verbindingen) en biologische metingen (afwijkingen bij vissen (extern), interne gehalten aan contaminanten in vissen en in de meest voorkomende bodemdieren en analyse van de bodemdierengemeenschap) uitgevoerd. In fase II wordt gedetailleerde, aanvullende informatie vergaard. De aanwezige verontreiniging wordt ruimtelijk afgebakend ('three-dimensional mapping'), gevolgd door een gedetailleerdere

inventarisatie van de bentische macrofauna. Als volgende stap in deze fase wordt o.a. de toxiciteit en mutageniteit van het sediment gemeten m.b.v. bioassays (Microtox, acute algentest, chronische test met *Daphnia magna*, testen met enkele bentische evertibraten, o.a. *Chironomus tentans*, bioaccumulatietest met vissen, Ames-test). Fase II wordt afgesloten met een gedetailleerde studie naar de dynamiek van het sediment (resuspensie, transport, sedimentatie van nieuw sediment en de kwaliteit daarvan).

2.3 Beoordeling van verontreinigde waterbodems in Nederland

2.3.1 Ecotoxicologische beoordeling: de 'Triade'-benadering

Als ecotoxicologische beoordelingsmethode voor verontreinigde waterbodems is in Nederland een enkele keer de 'MCA'-benadering (zie vorige paragraaf) toegepast (den Besten *et al.*, 1995), maar eigenlijk is alleen de 'Triade'-benadering (of delen daarvan) gangbaar. Zeker waar dit de toepassing in het kader van een Nader onderzoek betreft (zie ook hoofdstuk 3).

Een belangrijk uitgangspunt van de 'Triade'-benadering is dat de kwaliteit van (ernstig) verontreinigde waterbodems niet uitsluitend chemisch (C) worden beoordeeld. Ook wordt de macrofauna geïnventariseerd (V: veldinventarisatie) en worden bioassays (B) uitgevoerd. Vanwege deze 'drie componenten'-benadering (C, B, V) wordt deze methode aangeduid als de *Sediment Quality Triad* (van de Guchte, 1992). De 'Triade'-benadering is een integrale, effectgerichte benadering, gericht op een beschrijving (diagnose) van de waterbodemkwaliteit. Voor deze benadering wordt in Nederland gebruik gemaakt van bijna alle beoordelingstechnieken zoals weergegeven in tabel 1 (zie 2.1). Het RIZA heeft de handleiding geschreven voor de technische toepassing van deze benadering (Maas *et al.*, 1993).

In de 'Triade'-benadering worden de meetresultaten per techniek apart beoordeeld op basis van twee criteria waardoor drie klassen kunnen worden onderscheiden:

criterium	klasse	interpretatie per beoordelingscomponent		
		Chemie (mate van verontreiniging)	Bioassays (mate van effect)	Veldinventarisatie (mate van effect)
1	-	licht tot niet	weinig tot geen	weinig tot geen
	+	matig	matig	matig
	+	ernstig	ernstig	ernstig

Indien voor één beoordelingscomponent meerdere technieken zijn toegepast is het meest ernstige meetresultaat bepalend voor het oordeel van de betreffende component. Overschrijding van het eerste of tweede criterium geeft aan dat de gemeten waarde respectievelijk matig of ernstig afwijkt van de controle of referentie.

In de 'Triade'-benadering wordt een gelijk gewicht toegekend aan de uitkomst per beoordelingscomponent. Door combinatie van deze drie gelijkwaardige onderdelen kan tenslotte een ecotoxicologisch eindoordeel worden gegeven. De wijze waarop dit eindoordeel wordt afgeleid is vrij complex omdat er 27 (3³) mogelijke uitkomsten zijn voor deze combinatie. Wanneer echter voor alle drie de componenten criterium 2 wordt overschreden, en wanneer een relatie tussen de

waargenomen effecten en de mate van verontreiniging aannemelijk is, dan is een hoge prioriteit voor voortgaand handelen het meest duidelijk.

Voor een verdere beschrijving van de 'Triade'-benaderingswijze wordt verwezen naar: Burton, 1992; van de Guchte, 1991, 1992; van de Guchte *et al.*, 1992; Maas *et al.*, 1993; US EPA, 1992.

2.3.2 Overige benaderingswijzen

Naast (of in combinatie met) de 'Triade'-benadering zijn nog twee, niet ecotoxicologische benaderingswijzen voor de beoordeling van verontreinigde waterbodems gangbaar in Nederland (zie ook Kamps-Mulder, 1994):

'HC₅₀-waarde'-benadering

De (sediment)gehalten van microverontreinigingen worden gemeten en omgerekend naar de standaardbodem (10% organische stof en 25% lutum). De gehalten worden daarna vergeleken met de voor iedere specifieke verontreinigende stof gestelde HC₅₀-waarde⁵. Adviesbureau TAUW heeft op basis van deze benadering een methode ontwikkeld voor de beoordeling van landbodems, die na aanpassing wellicht ook kan worden gebruikt voor waterbodems (de Zwart, 1994).

Modelmatige benadering:

De (sediment)gehalten aan microverontreinigingen worden gemeten en omgerekend naar concentraties in oppervlaktewater of gehalten in organismen en daarna vergeleken met bekende toxiciteitgegevens. In het door het Waterloopkundig Laboratorium ontwikkelde computer-programma QRIUS wordt bijvoorbeeld gebruik gemaakt van deze benadering.

⁵ HC₅₀: Hazard Concentration: concentratie waarbij 50% van alle potentieel in een ecosysteem aanwezige organismen een nadelig effect ondervinden. Een nadelig effect kan bijvoorbeeld zijn: verminderde groei, reproductie of sterfte. HC₅₀-waarden zijn afgeleid uit toxiciteitgegevens van diverse dieren en planten.

3 ERVARING EN WENSEN WATERKWALITEITSBEHEERDERS

3.1 Inleiding

De ervaringen van regionale waterkwaliteitsbeheerders op het gebied van ecotoxicologische risicobeoordeling zijn geïnventariseerd opdat hiermee rekening kan worden gehouden bij het ontwerpen van een beoordelingssystematiek voor ecotoxicologische risico's van verontreinigde waterbodems. Hiertoe zijn de beheerders met ecotoxicologische ervaring in 1995 bezocht en geïnterviewd. De overige regionale waterbeheerders werd een vragenlijst toegestuurd (zie bijlage 2: benaderde regionale waterkwaliteitsbeheerders en bijlage 3: vragenlijst). Verder zijn de eindrapportages van 10 regionale Nader onderzoeken geëvalueerd. Tijdens deze inventarisatie van ervaringen (3.2.1) kwam een aantal knelpunten (3.2.2) en mede op basis daarvan een aantal specifieke wensen naar voren ten aanzien van een ecotoxicologische beoordelingssystematiek (3.2.3). Dit hoofdstuk wordt tenslotte afgesloten met een aantal conclusies (3.3).

3.2 Ervaringen, knelpunten en wensen

3.2.1 Inventarisatie van ervaringen

Enquête en interviews

Van 21 van de 22 benaderde regionale waterbeheerders konden de ervaringen en wensen worden geïnventariseerd (zie bijlage 4). Het merendeel van deze beheerders (15 respondenten) heeft in meer of mindere mate ervaring met de uitvoering van een ecotoxicologische risicobeoordeling van waterbodems (figuur 2).

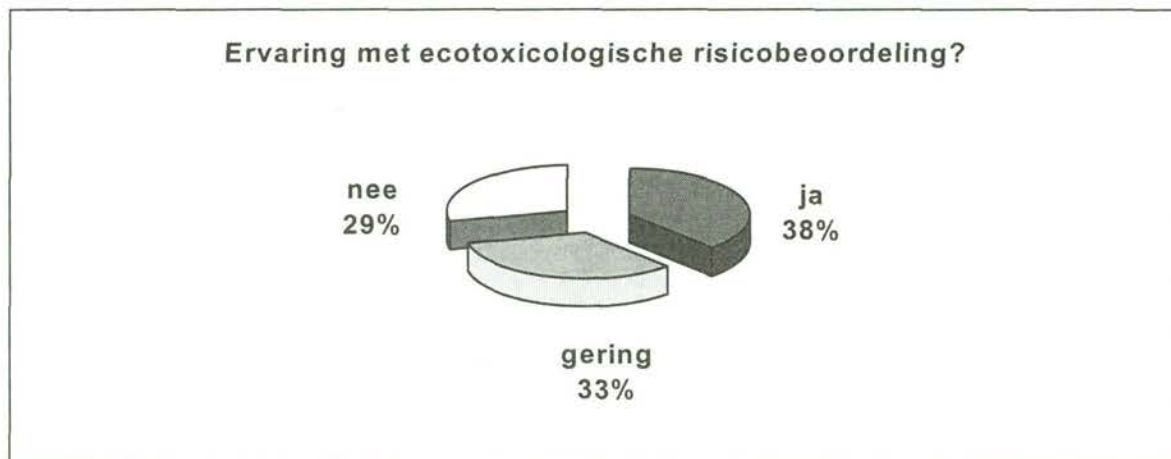


Fig. 2 Ervaring van regionale waterkwaliteitsbeheerders met ecotoxicologische risicobeoordeling (status 1995). Totaal aantal respondenten is 21 (95% van de regionale waterkwaliteitsbeheerders). 'ja': ervaring met uitvoering van veldinventarisatie en/of bioassays naast een chemische sedimentanalyse in kader van een Nader onderzoek; 'gering': ervaring met ecotoxicologische beoordeling, naast of los van chemische analyse en niet ten behoeve van Nader onderzoek; 'nee': geen ervaring met ecotoxicologische beoordeling.

In het kader van een Nader onderzoek hebben acht beheerders, naast chemische sedimentanalyse, tenminste één keer een veldinventarisatietechniek en/of bioassay uitgevoerd. Door zeven waterbeheerders werd minstens één keer gebruik gemaakt van een veldinventarisatietechniek en/of bioassay, echter niet ten behoeve van een Nader onderzoek. De overige zes waterbeheerders hebben uitsluitend chemische analyses toegepast.

In figuur 3 is een overzicht weergegeven van de meest toegepaste biologische technieken, telkens als aanvulling op chemische analyses. Bij de beoordeling van waterbodems blijkt de veldinventarisatietechniek het meest te zijn toegepast, op de voet gevolgd door de analyse van kaakafwijkingen bij muggenlarven. Voor het testen van acute en chronische toxiciteit zijn testen met bacteriën (*Vibrio fischeri*), watervlooien (*Daphnia magna*) en muggenlarven (*Chironomus riparius*) gangbaar. Door een geringer aantal waterbeheerders zijn gehalten aan verontreinigingen in vissen (aal) bepaald.

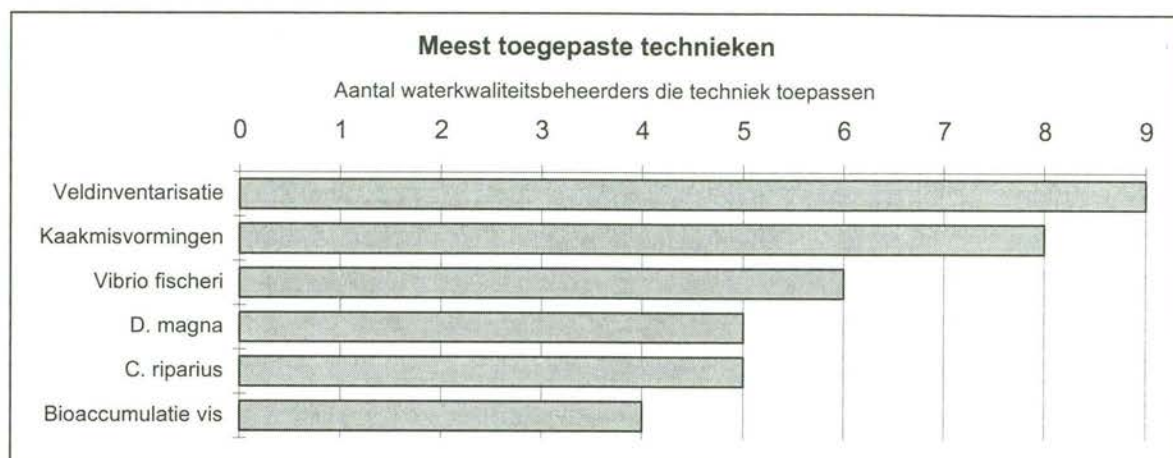


Fig. 3 De meest toegepaste technieken bij de ecotoxicologische risicobeoordeling van verontreinigde waterbodems door regionale waterkwaliteitsbeheerders. Vanwege de overzichtelijkheid zijn alleen de technieken weergegeven die door tenminste vier waterbeheerders zijn toegepast. In alle gevallen zijn deze technieken toegepast naast een chemische sedimentanalyse.

Met een aantal ecotoxicologische technieken is slechts door een gering aantal (minder dan vier) beheerders ervaring opgedaan: beoordeling misvormingen aan de *glossa* bij de muggenlarve *Procladius*, een veldbioassay met de watervlo *Daphnia magna*, de bioassays Rotoxkit F en Thamnotoxkit F en een bioassay met de zoute slijkgarnaal *Corophium volutator*.

Evaluatie van enkele Nader onderzoeken

Het resultaat van de evaluatie van de tien, door regionale waterkwaliteitsbeheerders uitgevoerde Nader onderzoeken is samengevat in bijlage 5. De helft van deze onderzoeken werd al eerder geëvalueerd door de werkgroep Waterbodemsanering van de provincie Zuid-Holland (Provincie Zuid-Holland *et al.*, 1995). In bijlage 5 worden de betreffende locaties apart (cursief) weergegeven. Een uitgebreide weergave van de bevindingen van de ten behoeve van deze evaluatie ingestelde werkgroep is opgenomen in bijlage 6.

In alle tien beschouwde Nader onderzoeken is naast chemische sedimentanalyse gebruik gemaakt van bioassays, zij het in beperkte mate (op gemiddeld 13% van de onderzochte (sub)locaties). In alle gevallen zijn chemische analyses aan de toplaag van het sediment verricht. Naast de toplaag zijn meestal ook de diepere lagen (90%), het grondwater en grondmonsters (70%) geanalyseerd. In 30% van deze gevallen is ook een analyse aan poriewatermonsters (zie begrippenlijst) verricht.

Wat betreft de inzet van ecotoxicologische testen en/of technieken zijn bij vijf van de tien Nader onderzoeken twee verschillende technieken naast elkaar toegepast. Dit zijn de chronische bioassays met de watervlo *Daphnia magna* en de muggenlarve *Chironomus riparius*. Bij de andere vijf Nader onderzoeken is slechts één techniek toegepast: of de bioassay met de bacterie *Vibrio fischeri* (voorheen *Photobacterium phosphoreum*) (40%), of de veldbioassay met de watervlo *Daphnia magna* (10%). Slechts in twee onderzoeken is een gebiedsreferentie meegenomen, waaraan de bioassay-effecten kunnen worden gerelateerd.

In zeven van de tien Nader onderzoeken zijn zowel veldinventarisaties verricht als pathologische parameters onderzocht. Daarbij is als pathologische parameter het percentage kaakmisvormingen bij *Chironomus* muggenlarven of, indien hiervan te weinig individuen konden worden verzameld, bij *Procladius* muggenlarven bestudeerd. In vier Nader onderzoeken is het weefsel van gevangen vissen chemisch geanalyseerd op verontreinigende stoffen (bioaccumulatieonderzoek).

In vrijwel alle Nader onderzoeken (80%) is gebruik gemaakt van de 'Triade'-systematiek (zie 2.3.1). In de overige gevallen (20%) is voor de risicobeoordeling uitgegaan van de HC₅₀-benadering (zie 2.3.2), eventueel aangevuld met een modelmatige benadering om een gehalte in organismen of waterfase af te leiden.

3.2.2 Knelpunten

De uitvoering van een veldinventarisatie roept bij de waterbeheerders de vraag op welke technieken bij de monsternamen dienen te worden gebruikt bij verschillende watertypen. Verder levert het definiëren en selecteren van referentielocaties voor veldinventarisaties problemen op. Ook blijkt het lastig de resultaten van veldinventarisaties te beoordelen bij gebrek aan eenduidige beoordelingscriteria. Een andere onduidelijkheid ten aanzien van referentielocaties is hoe er om moet worden gegaan met eventuele waargenomen negatieve effecten. De uitvoering van de analyse van kaakafwijkingen bij muggenlarven wordt als lastig ervaren, doordat het in de praktijk moeilijk is om onderscheid te maken tussen slijtage en breuk. Bij de interpretatie van gegevens uit veldinventarisaties wordt het gebruik van zogenaamde 'normaalwaarden' (zie begrippenlijst) zoals vastgelegd in het rapport 'Biologische typologie zoete waterbodems' als waardevol ervaren (AquaSense, 1993a). Deze 'normaalwaarden' zijn echter toegesneden op gebruik in rijkswateren. Onduidelijk is in hoeverre dezelfde waarden ook in regionale wateren kunnen worden toegepast.

Als knelpunten bij de toepassing van een ecotoxicologische risicobeoordeling wordt door meerdere waterkwaliteitsbeheerders de lastige interpreteerbaarheid van resultaten uit biologisch onderzoek genoemd. De criteria zijn vaak te onduidelijk (door ondoorzichtige onderbouwing en onduidelijke grenzen) en onvoldoende om de meetresultaten te kunnen interpreteren. De interpretatie van de resultaten uit bioaccumulatieonderzoek wordt, mede door de onduidelijke criteria als te academisch ervaren. Interpretatie van gegevens uit veldinventarisaties roept vragen op ten aanzien van het aantonen van verschillen en criteria voor de interpretatie van verhoudingen tussen geïnventariseerde (groepen) organismen (bijv. oligochaeten / (oligochaeten + chironomiden)).

Verder ondervindt men problemen bij het aannemelijk maken van een oorzaak-gevolg-relatie. De resultaten uit de biologische testen en/of technieken kunnen niet altijd verklaard worden door de in het sediment aangetroffen verontreinigingen. Voor resultaten uit bioaccumulatieonderzoek (stofgericht) was dat minder een probleem dan bij de effectgerichte technieken, zoals bioassays en veldinventarisaties. Complicerende factor bij de interpretatie van resultaten van biologisch onderzoek is dat het in vrijwel alle onderzochte gevallen onduidelijk is of sedimentanalyses en bioassays aan hetzelfde monster zijn verricht. Voor het aannemelijk maken van een oorzaak-gevolg-relatie is het noodzakelijk de chemische en biologische analyse aan hetzelfde monster uit te voeren.

3.2.3 Wensen

Mede naar aanleiding van de gesignaleerde knelpunten (3.2.2) worden door de regionale waterbeheerders via kernwoorden een aantal criteria genoemd waaraan een bruikbare ecotoxicologische beoordelingsmethode zou moeten voldoen (figuur 4 en bijlage 4). Een beschrijving van deze kernwoorden is weergegeven in tabel 3. In deze tabel wordt aan deze criteria ook een rangnummer toegekend, waarbij het meest genoemde criterium het hoogste rangnummer krijgt. Het aandeel van de overige criteria wordt gezamenlijk weergegeven in de categorie 'overig' (zie bijlage 4).

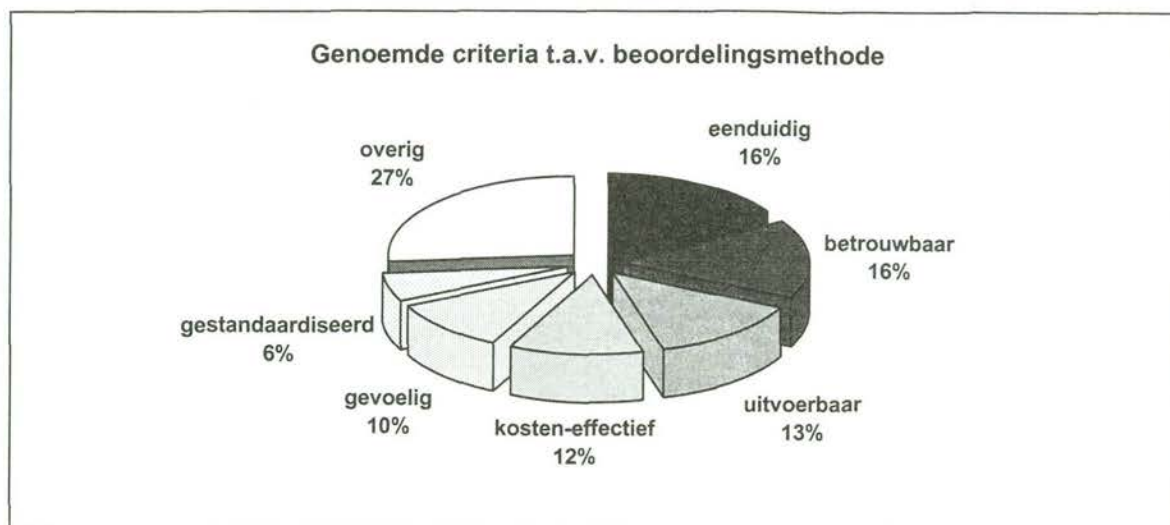


Fig. 4 Genoemde criteria t.a.v. een bruikbare ecotoxicologische beoordelingsmethode (voor categorie 'overig' zie bijlage 4). Aantal genoemde criteria (inclusief doublures) is 68.

Tabel 3 Omschrijvingen en rangnummer bij de meest genoemde criteria.

Criterium;	Rang-nr.:	# maal genoemd	Omschrijving (genoemd door waterbeheerders):
eenduidig	1	11	goed interpreteerbaar, relatie effect-gehalte specifieke stoffen
betrouwbaar	1	11	reproduceerbaar, robuust, niet storing gevoelig, moet werken
uitvoerbaar	2	9	eenvoudig, snel
kosten-effectief	3	8	goedkoop, verantwoord qua kosten
gevoelig	4	7	stof-, en/of stofgroepspecifiek
gestandaardiseerd	5	4	richtlijn en/of norm beschikbaar

Een ecotoxicologische beoordelingsmethode moet vooral eenduidig en betrouwbaar zijn: elf van de eenentwintig waterbeheerders geven deze kenmerken als belangrijkste criterium aan. Ruim een derde van de respondenten noemt uitvoerbaarheid en kosten-effectiviteit (respectievelijk negen en acht waterkwaliteitsbeheerders); een derde van de respondenten wil een gevoelige methode, en vier waterbeheerders vermelden dat de methode gestandaardiseerd moet zijn.

Alle geïnterviewde waterkwaliteitsbeheerders zijn het er in meer of mindere mate over eens dat een goede ecotoxicologische beoordeling uitsluitend op basis van fysisch/chemische analyses niet mogelijk is. De inzet van bioassays wordt in het algemeen gezien als een wenselijke aanvulling op chemische analyses om zo een goed inzicht in risico's voor het ecosysteem te krijgen. Omdat voor de voorbereiding, uitvoering en interpretatie van biologisch onderzoek specialistische kennis nodig is, wordt door de Provincie Zuid-Holland aanbevolen om dit onderzoek uit te besteden (Provincie Zuid-Holland *et al.*, 1995).

Het gebruik van bioassays wordt dus toegejuicht. Van de testen met *Chironomus riparius* en *Daphnia magna* is reeds gebleken, dat ze naast de beoordeling van rijkswateren, ook geschikt zijn voor de beoordeling van kleine, regionale wateren (Provincie Zuid-Holland *et al.*, 1995). Biologische onderzoeksresultaten mogen echter nooit alleen worden gebruikt om een risicoanalyse te onderbouwen. Daarnaast is het noodzakelijk altijd de relatie met het ecosysteem te blijven zoeken. Eén van de waterbeheerders geeft aan dat, gezien de duidelijk toegevoegde waarde van de inzet van biologische testen en/of technieken, de te maken kosten voor een set van bioassays niet te hoog is, zeker niet indien afgezet tegen de totale kosten van een Nader onderzoek. Een andere

waterbeheerder vindt het belangrijk dat bij de beoordeling van sediment (mede) op basis van bioassays alvast uitgegaan wordt van wat er na sanering verwacht kan worden. Wanneer de bioassays, en daardoor de sanering slechts gericht is op de klasse 4 verontreiniging, dan kan eventueel na de sanering klasse 3 verontreiniging overblijven. In dat geval is het raadzaam om het niet gesaneerde sediment te beoordelen met bioassays, die ook gevoelig genoeg zijn voor de ecotoxicologische beoordeling van de klasse 3 component.

De provincie Zuid-Holland wil graag een ecotoxicologische beoordelingsmethode die ongeacht de verontreinigingsgraad inzetbaar is om de kwaliteit van waterbodems te kunnen monitoren. De methode moet duidelijk aangeven, welke vragen wel, en welke niet beantwoord kunnen worden, moet goed uitvoerbaar en onderbouwd zijn en duidelijk aangeven hoe de meetgegevens geïnterpreteerd moeten worden. Volgens de evaluatie van de Zuidhollandse waterkwaliteitsbeheerders kan de 'Triade'-methode (zie bijlage 6) ook voor de bodems van kleinere regionale wateren hiervoor een goede basis vormen. Bij enkele waterbeheerders leverde 'Triade'-onderzoek, uitgevoerd door studenten van een milieukundige opleiding echter onbevredigende resultaten op. Voor één waterbeheerder is dit mede de oorzaak dat 'Triade'-onderzoek een lage prioriteit heeft gekregen, ondanks het besef dat de uitvoering van het onderzoek bedoeld was als leerervaring. De 'Triade'-benadering functioneert echter nog niet geheel optimaal voor toepassing in regionale wateren omdat de methode nog teveel elementen bevat die onvoldoende zijn gestandaardiseerd. Uit de gesignaleerde knelpunten blijkt dat criteria voor de beoordeling van de onderzoeksresultaten nog verduidelijking, onderbouwing en begrenzing behoeven. Er is behoefte aan richtlijnen voor het doorvertalen van gevonden effecten naar risico's voor het ecosysteem (laboratorium-veld extrapolatie).

3.3 Conclusies

Na inventarisatie van de ervaringen, knelpunten en wensen van de waterbeheerders kunnen de volgende conclusies worden geformuleerd:

- Het merendeel van de regionale waterkwaliteitsbeheerders (70%) heeft tenminste één keer gebruik gemaakt van biologische testen en/of technieken naast of los van chemische sedimentanalyses. Eenderde van de regionale waterkwaliteitsbeheerders heeft ervaring met ecotoxicologische beoordeling ten behoeve van Nader onderzoek. De meest toegepaste testen en technieken zijn veldinventarisatie, de beoordeling van kaakmisvormingen bij muggenlarven, de bioassay met *Vibrio fischeri* (voorheen *Photobacterium phosphoreum*), met *Daphnia magna* en met *Chironomus riparius*;
- De meest genoemde criteria waaraan een ecotoxicologische beoordelingsmethode volgens de waterbeheerders moet voldoen zijn eenduidigheid en betrouwbaarheid. In iets minder mate worden uitvoerbaarheid, kosten-effectiviteit, gevoeligheid en standaardiseerbaarheid genoemd;
- De regionale waterkwaliteitsbeheerders zijn ervan overtuigd dat een goede ecotoxicologische beoordeling op basis van uitsluitende fysisch/chemische analyses niet mogelijk is. De inzet van biologische testen en/of technieken wordt dan ook gezien als zeer waardevol en nodig om een goed inzicht in risico's voor het ecosysteem te krijgen.
- De 'Triade'-methode wordt ook voor de bodems van kleinere, regionale wateren als een goede basis gezien voor een ecotoxicologische risicobeoordelingsmethode. Wel worden verfijningen, aanpassingen en aanvullingen nodig geacht op het gebied van uitvoering en interpretatie van de resultaten.

4 GESCHIKTE BEOORDELINGSMETHODE

4.1 Randvoorwaarden

Op basis van het gestelde doel voor dit STOWA-project (hoofdstuk 1) en mede naar aanleiding van de ervaringen en wensen van waterkwaliteitsbeheerders (zie vorige hoofdstuk) zijn de volgende criteria opgesteld waaraan de methodiek voor de beoordeling van de saneringsurgentie van verontreinigde, regionale waterbodems dient te voldoen:

- De methode moet aansluiten bij de systematiek van de Wet Bodembescherming (WBB);
- Implementatie van biologisch onderzoek is essentieel;
- Met de methode moet een locatiespecifieke beoordeling mogelijk zijn;
- De geselecteerde beoordelingscomponenten en de daaronder vallende technieken moeten zo kosten-effectief mogelijk worden toegepast.

Deze criteria vormen de randvoorwaarden voor de beoordelingsmethode en worden hierna verder toegelicht.

4.1.1 Aansluiten bij de systematiek van de WBB

Het wettelijk kader is reeds in algemene zin (voor land- en waterbodems) verwoord in de inleiding (zie 1.4). Specifiek ten aanzien van de beoordeling van actuele ecologische risico's van verontreinigde waterbodems geldt dat er in geval van ernstige waterbodemverontreiniging altijd sprake is van een dergelijk risico en dus van sanering, *tenzij* deze verontreiniging zich beneden 0,5 meter onder het grensvlak oppervlaktewater/waterbodem bevindt. Verder wordt gesteld dat een combinatie van gebiedstype (afhankelijk van de aan het watersysteem toegekende functie) en omvang (oppervlakte en lengte) van de verontreiniging bepaalt of er in deze bovenste 50 cm sprake is van een actueel risico en dus van saneringsurgentie.

De WBB-systematiek is nog niet volledig uitgewerkt wat betreft de omgang met laboratorium- en veldinformatie over ecologische risico's. Zeker voor waterbodems, zo wordt gesteld, zal het bevoegd gezag steeds vaker tot de conclusie komen dat de systematiek niet of slechts ten dele toepasbaar is. De te ontwikkelen methode dient deze leemte dus in elk geval op te vullen voor wat betreft de beoordeling van verontreinigde, regionale waterbodems. Biologische informatie (uit veldonderzoek en/of bioassays) moet bruikbaar zijn om beslissingen die afwijken van de huidige WBB-systematiek te kunnen nemen en onderbouwen. Wanneer in gevallen van ernstige waterbodemverontreiniging met gericht biologisch onderzoek géén negatieve effecten worden aangetoond, dan moet het mogelijk zijn om op basis van dergelijk onderzoek het (chemische) oordeel 'sanering urgent' om te buigen in 'niet urgent'.

4.1.2 Implementatie van biologisch onderzoek

Steeds vaker wordt beargumenteerd dat het biologisch onderzoek een essentieel onderdeel dient uit te maken van een beoordelingsmethodiek voor verontreinigde (water)bodems. Niet alleen in Nederland (zie bijvoorbeeld Brils & den Besten, 1995; van de Guchte *et al.*, 1996 en de Poorter & van de Guchte (red.), *in prep.*), maar ook in onze buurlanden Duitsland (Zimmer, 1993) en België (de Cooman (red.), 1995) wordt hier op aangedrongen. Het wordt dringend noodzakelijk geacht om normen en risicoschattingen in het veld te valideren met behulp van biologisch onderzoek. In de beheerspraktijk wordt het dan mogelijk om meer gedifferentieerd met normen en risico's om te gaan (van de Guchte *et al.*, 1996). Uit de interviews en enquêtes onder de regionale waterkwaliteitsbeheerders (zie hoofdstuk 3) kwam duidelijk naar voren dat deze behoefte

daadwerkelijk bestaat. De huidige urgentiesystematiek volgens de WBB biedt echter te weinig wettelijke ruimte voor het toepassen van biologisch onderzoek (zie Nijhof, 1996 en van de Guchte *et al.*, 1996). Voor het ecotoxicologische werkveld is het een uitdaging om de beleidsmakers te overtuigen van het nut van biologisch onderzoek. Dat dit mogelijk lijkt te gaan lukken is af te leiden uit de visienotitie 'Ruimte voor Water', die het pad moet effenen voor de - naar verwachting in 1998 te verschijnen - Vierde Nota Waterhuishouding (Berends *et al.*, 1995). In deze visienotitie wordt namelijk erkend dat het beleid haar normering noodgedwongen moet richten op een selectie van de vele duizenden verontreinigende stoffen, die hooguit slechts een deel van de met biologisch onderzoek geconstateerde toxische effecten verklaren⁶. Anderzijds kan de toepassing van generieke chemische normen ook leiden tot een overschatting van actuele lokale risico's. Soms worden bij gevallen van ernstige waterbodemonverontreiniging namelijk géén negatieve effecten op het watersysteem waargenomen. Het huidige normenstelsel laat onvoldoende zien hoe ernstig de verontreiniging van waterbodems moet worden genomen. Dit inzicht zou wel kunnen worden verkregen indien de (chemiegerichte) normering wordt ondersteund, of zelfs wordt omgebogen naar beter bruikbare effectgerichte ecotoxicologische toetsen (bioassays). Deze kunnen daarmee wellicht een bijdrage leveren aan een vereenvoudiging van en besparing op het waterbodemonderzoek.

Voor de bepaling van de saneringsurgentie van verontreinigde waterbodems in de rijkswateren zijn geschikte bioassays en protocollen reeds voorhanden (zie Maas *et al.*, 1993) en deze worden al enige jaren toegepast. Bovendien zijn beoordelingssystematieken en -criteria grotendeels beschikbaar. Uit de thans operationele technieken (bioassays en veldinventarisatie) is een bruikbare selectie te maken die toepasbaar is bij de beoordeling van de saneringsurgentie van waterbodems. Alleen ontbreekt het aan een wettelijk kader waarin in voldoende mate rekening wordt gehouden met de biologische informatie. Ook ontbreekt het in beleidsdocumenten aan de noodzakelijke eenduidige beoordelingscriteria voor biologisch onderzoek (van de Guchte *et al.*, 1996).

4.1.3 Locatiespecifiek

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 vragen om enorme investeringen. Een gebiedsgerichte benadering van watersystemen kan volgens de visienotitie 'Ruimte voor Water' uitkomst bieden. De verwachting is dan ook dat de normering meer en meer zal worden toegesneden op het gebiedseigen karakter. De accenten zullen meer komen te liggen op regionale differentiatie (Berends *et al.*, 1995).

Binnen de WBB wordt het belang van een gebiedsgerichte beoordeling enigszins onderkend door de omvang van de waterbodemonverontreiniging te koppelen aan het gebiedstype (zie 4.1.1). Het komt er hierbij op neer dat de criteria voor natuurgebieden en kern- en ontwikkelingsgebieden in de Ecologische hoofdstructuur het strengste zijn en voor bijvoorbeeld stedelijke en industriegebieden het minst streng.

Een gebiedsgerichte beoordeling is voor de regionale waterbeheerders echter nog niet gedifferentieerd genoeg. De beheersvragen richten zich op een lokaal niveau (zie hoofdstuk 3 en van de Guchte *et al.*, 1996). De beheerder wil rekening kunnen houden met verschillen in bodemtype, ecotopen, bodemfuncties en bodemgebruik. Verder bestaat er behoefte om de beoordeling uitsluitend te richten op de specifiek op de betreffende locatie voorkomende,

⁶ In Rijnwater verklaren de concentraties van de routinematig chemisch gemeten prioritaire stoffen bijvoorbeeld slechts circa 15% van de met behulp van bioassays waargenomen toxiciteit (de Poorter & van de Guchte (red.), *in prep.*).

interventiewaardeoverschrijdende (klasse 4) stoffen. Er is dus behoefte aan een locatiespecifieke en stofgerichte beoordelingsmethode met een nadruk op de diagnose. Op die manier worden oorzaak-gevolg-relaties zichtbaar gemaakt. Dit inzicht is noodzakelijk om de risico's voor het ecosysteem te reduceren indien tot sanering wordt overgegaan (den Besten *et al.*, 1995).

4.1.4 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 het beheer is 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 hoofdstuk 3) bleek dat hieraan een groot belang wordt gehecht. Kosten-effectiviteit is daarom een belangrijke randvoorwaarde voor een geschikte beoordelingsmethodiek.

Kosten-effectiviteit wordt nagestreefd door locatiespecifiek te beoordelen welke technieken het beste kunnen worden ingezet en door te kijken of het via technische aanpassingen mogelijk is om de geselecteerde technieken op een goedkopere manier toe te passen.

4.2 Basisontwerp beoordelingsmethode

4.2.1 Stapsgewijs keuzesysteem

In een door het Programma Geïntegreerd Bodemonderzoek (PGBO) geïnitieerde studie naar de status van ecotoxicologische risicobeoordeling van verontreinigde waterbodems (van de Guchte *et al.*, 1996) wordt aangedrongen op het ontwikkelen van keuzesystemen die duidelijk aangeven wanneer specifieke beoordelingscomponenten en -technieken het meest zinvol kunnen worden toegepast. Bij deze aanpak is het nodig om iedere (vervolg) stap te beargumenteren. Hierna wordt toegelicht dat deze aanpak uitstekend past bij de eerder gestelde randvoorwaarden voor een geschikte beoordelingsmethode (4.1) en daarom is deze aanpak gekozen als basisontwerp voor de ecotoxicologische beoordelingsmethode.

Uitgangspunt bij de risicobeoordeling is een stapsgewijze toepassing van uitsluitend kansrijke biologische beoordelingstechnieken (randvoorwaarde 2, zie 4.1). 'Kansrijk' zijn die technieken waarbij in theorie een *trefkans* bestaat op het waarnemen van negatieve effecten als gevolg van de gevalsbepalende (zie 1.4), locatiespecifieke (randvoorwaarde 3) waterbodemverontreiniging(en). Indien met behulp van een of meerdere van deze technieken in de praktijk daadwerkelijk negatieve effecten worden waargenomen, dan is daarmee een actueel risico bij het huidige gebruik aangetoond omdat een relatie tussen de chemische oorzaak (de klasse 4 verontreiniging) en het biologische effect aannemelijk is gemaakt. Op deze wijze sluit de methodiek aan op de Wet Bodembescherming (randvoorwaarde 1). Per situatie kan de selectie van in te zetten technieken verschillen. De volgorde wordt bepaald aan de hand van een keuzesysteem op basis van kosten-effectiviteit (randvoorwaarde 4). Het meest kosten-effectief is die techniek waarmee, afhankelijk van het moment en de locatie, met de minste inzet aan middelen (geld, tijd, ruimte) een negatief effect kan worden aangetoond. Deze aanpak is een verfijning van de tot nu toe in Nederland toegepaste 'Triade'-methodiek: de technieken worden niet parallel (Triade), maar via een keuzesysteem, stapsgewijs toegepast. Beide aanpakken worden schematisch naast elkaar weergegeven in figuur 5.

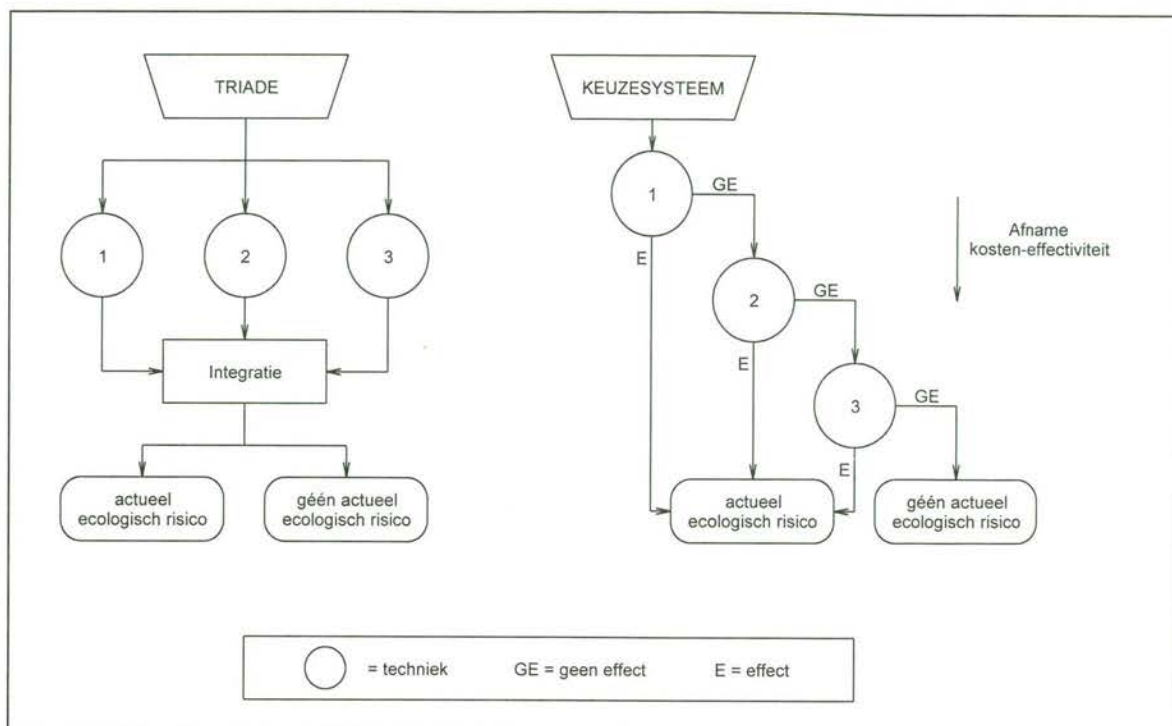


Fig. 5 Schematische weergave van de beoordeling van verontreinigde waterbodems volgens de huidige 'Triade'-systematiek (parallele inzet van technieken) en de verfijnde aanpak volgens een keuzesysteem (stapsgewijze inzet van technieken).

Wanneer in de eerste stap géén negatieve effecten worden waargenomen, dan is de biologische beschikbaarheid van de betreffende verontreiniging lager dan verwacht voor deze techniek. De beoordeling wordt dan vervolgd met net zoveel beoordelingstappen als nodig om daadwerkelijk een negatief effect aan te tonen. Bij iedere vervolgstap wordt steeds beoordeeld of er een reële, theoretische trefkans is om met de betreffende techniek negatieve effecten te kunnen waarnemen. Indien dit ook met een bepaalde marge⁷ niet meer aannemelijk is, dan zijn alle kansrijke stappen doorlopen en stopt de toepassing van technieken. Er wordt zo een duidelijk maximum aangegeven aan de in te zetten technieken. In dit geval kan worden gesteld dat de betreffende, gevalsbepalende stof(fen) géén actueel ecologisch risico oplevert (leveren). Het bevoegd gezag wordt vervolgens aanbevolen om het (chemische) saneringsoordeel 'urgent' om te buigen in het oordeel 'niet urgent'. Indien bij een van de stappen wél een negatief effect wordt aangetoond, dan kan de beoordeling uiteraard eerder worden gestopt. Er is dan een actueel ecologisch risico aannemelijk gemaakt en de saneringsurgentie is hiermee ecologisch onderbouwd.

Bij de toepassing van het stapsgewijs keuzesysteem worden twee verschillende situaties onderscheiden:

⁷ Dit in verband met onzekerheden over de inschatting van de biologische beschikbaarheid en onzekerheden over de 'performance' van de betreffende techniek.

1. Slechts één stof(groep) is problematisch

Slechts één stof, of stofgroep met een vergelijkbaar werkingsmechanisme is 'gevalsbepalend' en dus verantwoordelijk voor het chemische oordeel 'sanering urgent'. De gehalten van de overige verontreinigende stoffen liggen beneden de toetsingswaarde (klasse 0, 1 of 2);

2. Meerdere stoffen zijn problematisch (complex mengsel)

Slechts één stof, of stofgroep met een vergelijkbaar werkingsmechanisme is 'gevalsbepalend' en dus verantwoordelijk voor het oordeel 'sanering urgent'. De gehalten van een of meerdere van de overige verontreinigende stoffen, met een ander werkingsmechanisme, overschrijden de toetsingswaarde (klasse 3);

OF:

Meerdere stoffen met een verschillend werkingsmechanisme zijn 'gevalsbepalend' en dus verantwoordelijk voor het oordeel 'sanering urgent';

Bij situatie 1 en 2 is een onderscheid gemaakt tussen gehalten die beneden de toetsingswaarde liggen (verontreinigingsklasse 0, 1 en 2) en gehalten vanaf de toetsingswaarde (verontreinigingsklasse 3 en 4). Hiermee wordt aangesloten bij de opdeling zoals gehanteerd bij het onderzoek naar normaal- of referentiewaarden voor biologische parameters voor relatief schone zoete Nederlandse waterbodems (project 'VWA*Typosed', AquaSense, 1993a). In dat onderzoek zijn bodems tot en met klasse 2 als relatief schoon beschouwd en geschikt als referentie.

4.2.2 Keuzesysteem bij aanwezigheid van slechts één problematische stof(groep)

Wanneer slechts één stof of stofgroep met een vergelijkbaar werkingsmechanisme 'gevalsbepalend' is (situatie 1), dan hoeft bij de selectie van in te zetten technieken alleen rekening te worden gehouden met de betreffende stof(groep). Hier is daarom sprake van een stofgerichte benadering. Van een vergelijkbaar werkingsmechanisme is sprake als de toxiciteit van de verschillende stoffen volledig optelbaar zijn. Dit is in het algemeen het geval bij stoffen met een narcotiserende werking (zie begrippenlijst). Narcotiserende stoffen zijn hydrofoob (zie begrippenlijst) en hopen zich daardoor op in hydrofobe compartimenten van een organisme zoals membranen. Hierdoor wordt een algemene verstoring van de structuur van deze membranen veroorzaakt, wat leidt tot toxische effecten. Er is dus geen specifiek aangrijpingspunt in het organisme (bijvoorbeeld het verstoren van een bepaalde enzymreactie of beschadiging van een specifiek orgaan), en daarom wordt gezegd dat de stoffen aspecifiek werken (van Straalen en Verkleij, 1991). In principe gaat deze narcotiserende werking op voor stoffen binnen de volgende stofgroepen (Stortelder *et al.*, 1989):

- PAK's;
- PCB's;
- Vluchtige organohalogenen;
- Mono- en bicyclische aromaten;
- Gechlloreerde benzenen;
- Gechlloreerde fenolen;
- Gechlloreerde anilines.

Om tot de conclusie te komen dat er géén actueel ecologisch risico aanwezig is, en de sanering dus als niet-urgent kan worden beoordeeld, is het in sommige gevallen niet nodig om met alle voor het keuzesysteem geselecteerde technieken (zie volgende hoofdstuk) aan te tonen dat er geen negatieve effecten zijn. Er bestaan immers situaties waar voor bepaalde technieken in theorie geen trefkans bestaat op het detecteren van negatieve effecten als gevolg van de gevalsbepalende verontreiniging (zie 4.2.1). Deze technieken hoeven dan ook niet te worden ingezet om bovenstaande conclusie te onderbouwen.

4.2.3 Keuzesysteem bij aanwezigheid van meerdere problematische stofgroepen

In situaties waar sprake is van een complex mengsel van verontreinigende stoffen (situatie 2) dient een andere dan de voor situatie 1 geschetste benadering te worden gevolgd. In een complex mengsel zijn meerdere problematische stofgroepen aanwezig met verschillende werkingsmechanismen. De stofgerichte benadering voldoet hier niet omdat tussen verschillende soorten testorganismen (grote) verschillen in gevoeligheid voor specifieke toxicanten bestaan. Een factor 10.000 verschil in gevoeligheid tussen soorten voor een specifieke stof is niet onrealistisch. Een bepaald testorganisme kan dus voor een toxicant zeer gevoelig zijn en voor een andere juist helemaal niet. Er bestaat dus niet zoiets als 'het meest gevoelige testorganisme'. Voor de beoordelingscomponent bioassays (zie hoofdstuk 2, tabel 1) wordt in een dergelijke situatie in het algemeen aanbevolen om een testbatterij van meerdere bioassays tegelijk te gebruiken (zie 2.1.2).

Aangezien het in situatie 2 (complex mengsel) zeer lastig is om aan te geven welke techniek het meest kansrijk is om negatieve effecten (toxiciteit) te detecteren, wordt de beoordeling begonnen met de goedkoopste beoordelingscomponent. Wanneer bioassays worden ingezet is altijd sprake van het toepassen van een testbatterij om zo een optimale trefkans op het detecteren van toxiciteit te verkrijgen. Wordt in een van de beoordelingsstappen daadwerkelijk een (significant) negatief effect vastgesteld, dan moet op basis van de gemeten gehalten aan verontreinigende stoffen wel nog beoordeeld moeten worden of het aannemelijk is dat de betreffende stof, of combinatie van stoffen (combinatietoxiciteit) verantwoordelijk is voor het gevonden effect. Indien dit het geval is, kan worden gesteld dat een actueel ecologisch risico daadwerkelijk is gemeten en dat de sanering ook op biologische basis als urgent moet worden beschouwd. De toxiciteit van de verschillende stoffen kan in deze situatie echter niet zonder meer worden opgeteld. Er wordt nog volop onderzoek verricht om de mechanismen achter combinatietoxiciteit op te helderen. Hierop wordt hier niet verder ingegaan.

Wanneer in géén van alle stappen een negatief effect wordt gemeten, dan is het hele scala aan technieken uit de 'Triade'-benadering doorlopen en dan is het voor de specifieke locatie aannemelijk dat de aanwezige verontreinigingen, in de huidige situatie géén actueel ecologisch risico opleveren. Op basis hiervan wordt aan het bevoegd gezag voorgesteld om het oordeel 'sanering urgent' om te buigen naar 'niet urgent' (zie situatie 1).

5 SELECTIE VAN BEOORDELINGSTECHNIKEN

5.1 Gewenste technieken

Het uitgangspunt bij de selectie van ecotoxicologische beoordelingstechnieken is een beperkte (betaalbare), weloverwogen set van praktisch uitvoerbare en betrouwbare biologische beoordelingstechnieken. Hiermee moet in voldoende mate aannemelijk kunnen worden gemaakt dat er, volgens de huidige inzichten, géén biologische effecten zijn en een actueel ecologisch risico dus niet aantoonbaar is. Het gaat hierbij om het aannemelijk maken van de afwezigheid van:

- toxische effecten;
- EN van doorvergiftigingsrisico's;
- EN van negatieve effecten in het veld.

Hierbij wordt benadrukt dat hiermee nog niet is aangetoond dat er helemaal géén ecologische risico's aanwezig zijn. De geselecteerde set van technieken zal namelijk, onder andere vanwege de beperktheid, in lang niet alle gevallen de meest gevoelige techniek bevatten om de risico's van specifieke gevalsbepalende stoffen te beoordelen. De geselecteerde set moet dan ook worden gezien als een set van aanbevolen technieken die het beste tegemoet komt aan het bovengenoemde uitgangspunt. Voor specifieke wensen zal het nodig zijn om deze set aan te vullen met complementaire technieken of om bepaalde technieken te vervangen door gevoeligere technieken. Ook is het zeer waarschijnlijk dat er veranderingen in, of aanvullingen op deze set van technieken komen wanneer in de (nabije) toekomst betere of complementaire technieken voldoen aan het uitgangspunt. In de laatste paragraaf van het volgende hoofdstuk (6.5) wordt hier verder op ingegaan.

5.2 Geselecteerde technieken

In tabel 4 worden de geselecteerde ecotoxicologische beoordelingstechnieken weergegeven.

Tabel 4 Geselecteerde beoordelingstechnieken. Componenten: B = bioassays, V = veldinventarisatie; Status: T = gangbare 'Triade'-techniek, A = aanvullende, veelbelovende techniek.

vraag	Beoordelings-		status	eindpunt
	compo- nent	techniek		
Toxiciteit?	B	<i>Acute bioassays (screeningtesten):</i>		
		1. Algentest	A	Populatiegroei
		2. Bacterietest	T	Bioluminescentie
		3. Thamnotoxkit F-test en/of Watervlooiëntest	A	Overleving en/of mobiliteit
	B	4. Rotoxkit F-test	A	Overleving
		<i>Chronische bioassays:</i>		
Doorvergiftigingsrisico?	B	5. Watervlooiëntest	T	Reproductie (en overleving)
		6. Muggelarventest	T	Overleving, ontwikkeling, groei
	B	7. Oligochaeten bioaccumulatietest	T	Interne stofgehalten
	V	8. Verzamelen/determineren macrofauna	T	Dichtheid, aantal soorten
	V	9. Verzamelen/opwerken chironomiden	T	Kaakmisvormingen

Alle gangbare 'Triade'-technieken (Maas *et al.*, 1993) zijn geselecteerd omdat hiermee in Nederland reeds ruime en positieve ervaring is opgedaan bij de beoordeling van de saneringsurgentie van verontreinigde rijkswateren. Ook na de enkele toepassingen in het kader van Nader onderzoek in regionale wateren (zie hoofdstuk 3: evaluatie proefprojecten waterbodemsanering in de provincie Zuid-Holland), is er vertrouwen in de 'Triade'-methode en de daarbij gebruikte technieken, mits deze verder worden toegespitst op regionale waterbodems. Het gaat hier dan vooral om de vraag of en hoe de prestaties van de diverse technieken onder de specifieke lokale omstandigheden afwijken van de prestaties bij toepassing in de grotere rijkswateren. Bij afwijkingen dienen dan specifieke beoordelingscriteria te worden opgesteld.

De set 'Triade'-technieken is aangevuld met enkele relatief nieuwe, veelbelovende acute bioassays. Deze zijn geselecteerd uit een lijst met 116 technieken die door AquaSense in opdracht van de STOWA zijn geïnventariseerd ten behoeve van de actieve biologische monitoring van oppervlaktewater, maar waarvan veel technieken ook geschikt zijn voor de beoordeling van verontreinigde waterbodems (STOWA, 1997). Hiermee is een complete testbatterij van acute laboratoriumbioassays beschikbaar, zodat (acute) toxische effecten van een breed scala van problematische stoffen kan worden gemeten (zie 4.2.3).

5.3 Onderbouwing selectie

5.3.1 Bioassays voor de beoordeling van toxische effecten

'Triade'-bioassays

Toepassing van de chronische bioassays met muggenlarven (*Chironomus riparius*) en watervlooien (*Daphnia magna*) in combinatie met de acute bioassay met bacteriën (*Vibrio fischeri*, voorheen *Photobacterium phosphoreum*), geeft in elk geval voor verontreinigde waterbodems in het Rijnstroomgebied een goede verhouding tussen kosten en effectiviteit (van de Guchte, 1991 en 1992; Brils en den Besten, 1995). De basis van de set technieken voor de beoordeling van toxische effecten wordt dan ook gevormd door deze drie 'Triade'-bioassays.

Omdat in de Nederlandse situatie in het algemeen sprake is van relatief lage gehalten van toxicanten in waterbodems, worden de bioassays met de bentische (zie begrippenlijst) muggenlarve *C. riparius* en met de pelagische (zie begrippenlijst) watervlo *D. magna* als chronische test uitgevoerd, omdat chronische testen gevoeliger zijn dan acute testen. Door blootstelling van *C. riparius* in een zogenaamd sediment/watersysteem (zie begrippenlijst) en blootstelling van *D. magna* aan poriewater (zie begrippenlijst) worden bovendien de twee belangrijkste blootstellingsroutes van organismen aan toxicanten in waterbodems bestudeerd. Sterk verontreinigde sedimenten kunnen ook acute toxische effecten veroorzaken. Daarom wordt routinematig ook gebruik gemaakt van de acute bioassay met de luminescerende, mariene bacterie *V. fischeri*. Dit zoutwaterorganisme heeft zich in praktijk namelijk als bruikbaar bewezen voor het beoordelen van zowel zoete (na bijstelling van het zoutgehalte) als zoute poriewatermonsters.

Aanvullende, veelbelovende acute bioassays

Aangezien acute bioassays goedkoper, makkelijker en sneller zijn uit te voeren dan chronische bioassays (deze testen worden daarom ook wel aangeduid als screeningtesten), is het uit oogpunt van kosten-effectiviteit raadzaam waar mogelijk gebruik te maken van acute bioassays. Omdat de regionale waterbodems zijn verontreinigd met diverse stofgroepen (vaak in mengsels), zal de acute bacterietest in lang niet alle gevallen de meest gevoelige screeningtechniek zijn. Voor een optimale trefkans op het aantonen van acute toxiciteit is het nodig om te kunnen beschikken over een testbatterij (zie 2.1.2) van screeningtesten. Derhalve is als aanvulling gekozen voor de algentest, de Thamnotoxkit F-test (of de watervlooientest) en de Rotoxkit F-test.

De acute algentest is gekozen omdat gebleken is dat hiermee toxische effecten kunnen worden gemeten indien de algen worden blootgesteld aan poriewater gewonnen uit verontreinigde (klasse 3 en 4) waterbodems (van de Guchte & Maas-Diepeveen, 1987; de Cooman, 1995a). Bovendien is een toevoeging van deze techniek aan de testbatterij screeningtesten waardevol omdat hiermee ook toxiciteit kan worden gedetecteerd van specifieke stoffen die de fotosynthese-activiteit remmen (en daardoor indirect de populatiegroei). De routinematige toepassing van deze techniek werd tot voor kort zeer geremd doordat de conventionele acute algentest relatief arbeidsintensief en dus duur is. Met de recent beschikbaar gekomen Algaltoxkit-test (zie 5.4, beschrijving technieken), die overigens ook conform de conventionele richtlijn (OECD 201, 1984) wordt uitgevoerd, is dit probleem grotendeels opgelost. Deze techniek is mede geselecteerd vanwege de algemene gevoeligheid voor toxicanten in waterbodems, zoals aangetoond in een omvangrijke studie naar verontreinigde waterbodems in Vlaanderen (de Cooman, 1995a). Hier bleek de acute algentest namelijk een van de meest gevoelige technieken voor het kunnen aantonen van toxiciteit.

In de bovengenoemde Vlaamse studie zijn naast de acute algentest nog een tiental andere bioassays gebruikt om de toxiciteit van sedimentmonsters van 80 (sub)locaties in de rivieren de Dommel, de Jeker, en de IJzer te beoordelen. Van alle monsters, die voor één of meerdere van deze bioassays toxisch bleken, kon 80% als toxisch worden gedetecteerd door de combinatie (testbatterij) van de acute algentest en Thamnotoxkit F-test. Op basis van de resultaten van dit onderzoek is in België voor een eerste evaluatie van de toxiciteit van waterbodems voorgesteld om beide technieken gecombineerd toe te passen. Naast de hoge trefkans op het detecteren van toxiciteit heeft bij deze keuze ook meegespeeld dat beide technieken snel, eenvoudig en routinematig bruikbaar zijn, en dat deze technieken in voldoende mate zijn gestandaardiseerd (de Cooman, 1995a.).

Inmiddels is ook in Nederland ervaring opgedaan met de Thamnotoxkit F-test bij de beoordeling van (rijks)waterbodems (zie o.a. AquaSense, 1994a, 1995, 1996a, 1996b en 1997). Ook hier bleek een groot deel van de (sterk) verontreinigde sedimentmonsters toxisch voor het testorganisme *Thamnocephalus platyurus* (kreeftachtige) uit deze Toxkit. Hetzelfde geldt voor de test met de rotifeer *Brachionus calyciflorus* (Rotokit F), die simultaan is toegepast. Deze technieken lijken derhalve veelbelovend en daarom is er voor gekozen om de testbatterij screeningtesten hiermee te completeren.

In tabel 4 wordt de mogelijkheid aangegeven om in plaats van *T. platyurus* te kiezen voor de watervlo *Daphnia magna*. Deze optie is opgenomen omdat onderzoek heeft aangetoond dat de gevoeligheid van beide kreeftachtigen (uitgaande van dezelfde blootstellingsduur en eindpunt) vergelijkbaar is (Persoone *et al.*, 1994) en er inmiddels een goedkoper alternatief voor de conventionele Daphnia-test bestaat, namelijk de Daphtoxkit F (start met watervlooien afkomstig uit wintereieren en niet uit een, duurdere, kweek). Een aanvullende reden om te kiezen voor *D. magna* in plaats van *T. platyurus* kan zijn dat er voor de acute *D. magna* test veel meer toxiciteitgegevens beschikbaar zijn. Bovendien kan de testduur van testen met *D. magna* zonder problemen worden verlengd van 24 naar 48 uur, waardoor deze test meestal gevoeliger wordt.

5.3.2 Bioaccumulatietest voor de beoordeling van doorvergiftigingsrisico's

De laboratoriumbioaccumulatietest met oligochaeten is geselecteerd (tabel 4) omdat deze zeer bruikbaar is gebleken voor de beoordeling van de biologische beschikbaarheid van specifieke toxicanten. Op basis hiervan kunnen ook doorvergiftigingsrisico's (zie begrippenlijst) voor organismen die hoger in de voedselketen staan worden ingeschat (den Besten, 1996). De toepassing van deze techniek in plaats van het meten van gehalten in oligochaeten of andere bentische organismen uit het veld, is kosten-effectiever omdat het verzamelen van voldoende veldorganismen om chemische analyse mogelijk te maken zeer arbeidsintensief is. Bovendien is de relatie tussen interne gehalten en het gehalte in sediment makkelijker te leggen bij laboratoriumtesten omdat veldorganismen de mogelijkheid hebben om de meest verontreinigde delen te vermijden (de laboratoriumtest is wat dat betreft dus ook een 'worst case'-benadering). Dit geldt in nog sterkere

mate voor de nog mobielere, hogere organismen zoals bijvoorbeeld paling. Verder zijn laboratoriumtesten beter gestandaardiseerd, waardoor de resultaten beter reproduceerbaar zijn. Het meten van gehalten in hogere organismen uit het veld heeft echter weer als voordeel dat de gehalten rechtstreeks worden gemeten in een hoger trofisch niveau. Indien er voldoende budget beschikbaar is, kan worden overwogen om beide uit te voeren. Uit oogpunt van kosten-effectiviteit verdient de uitvoering van bioaccumulatietesten met oligochaeten in het laboratorium de voorkeur in plaats van het meten van gehalten in organismen uit het veld. Meer bijzonderheden hierover worden beschreven in paragraaf 6.3.

5.3.3 Veldinventarisatie voor de beoordeling van negatieve effecten in het veld

Het voorkomen van negatieve effecten in het veld kan worden beoordeeld door het uitvoeren van een veldinventarisatie waarbij de volgende zaken worden bestudeerd:

- ecologische kwaliteit;
- het voorkomen van pathologische effecten (zie begrippenlijst).

Ecologische kwaliteit

De ecologische kwaliteit van waterbodems kan worden afgemeten aan het voorkomen en de abundantie van flora en fauna in relatie tot fysische en chemische omgevingsfactoren. Hierbij wordt vrijwel uitsluitend gebruik gemaakt van passieve monitoringtechnieken (zie begrippenlijst). In het algemeen kunnen passieve biomonitoringtechnieken worden aangeduid als technieken waarbij een veldinventarisatie, een analyse of verwerking van de verzamelde monsters of gegevens alsmede een interpretatie noodzakelijk is. Het gaat hier dus om de beschrijving van de huidige situatie of toestand. Bij voorkeur wordt deze dan vergeleken met de toestand op een lokale referentielocatie, maar, bij gebrek hieraan, meestal met een bepaalde klasse- of kwaliteitsindeling of met een bepaald streefbeeld (normaalwaarde). De veranderingen in deze toestand geven een indruk van de lange termijnontwikkelingen in de waterbodembodemkwaliteit. Een nadeel van deze technieken is dat oorzaak-effect-relaties voor specifieke verontreinigende stoffen vaak niet of nauwelijks aannemelijk kunnen worden gemaakt. Wel zijn in diverse studies relaties aangetoond tussen de algehele verontreinigingsgraad van het sediment en de relatieve en absolute abundantie van verschillende soorten organismen. Hierop wordt verder ingegaan in paragraaf 6.4.

Het meest betrouwbaar voor het bepalen van de ecologische kwaliteit zijn die veldparameters die gebaseerd zijn op het voorkomen en de dichtheid van algemeen voorkomende, weinig mobiele macrofaunasoorten. Vanwege het relatief grote aantal toxiciteitsgegevens voor deze groepen van organismen zijn vooral chironomidenlarven en oligochaeten bijzonder indicatief (van de Guchte, 1992). Inzicht in de abundantie van deze bodemdieren zegt iets over de huidige en over de historische omgevingsomstandigheden (Milbrink, 1983). Uitgaande van deze taxonomische groepen, bestaat er op dit moment voor de volgende veldparameters voldoende vertrouwen in een relatie tussen de hoogte van parameter en de mate van toxische stress (Reinhold-Dudok van Heel & den Besten, in prep.)⁸:

- Totale dichtheid chironomiden (en het aantal soorten);
- Totale dichtheid oligochaeten (en het aantal soorten).

Voor deze parameters is het aannemelijk dat ze een beeld geven van de ecologische waterbodembodemkwaliteit. Ook zijn hiervoor reeds beoordelingscriteria afgeleid voor verschillende habitats, ingedeeld op basis van bodemkarakteristieken (den Besten *et al.*, 1995; den Besten, 1997). Zolang de bodemkarakteristieken (habitat) overeenkomen, lijken deze parameters, en de daarvoor

⁸ Hierbij dient te worden aangetekend dat het hier gaat om door de Rijn en Maas beïnvloede sedimentatiegebieden.

beschikbare beoordelingscriteria, ook bruikbaar voor de beoordeling van verontreinigde regionale waterbodems. In de algemene beschrijving van deze techniek (zie 5.4) wordt verder ingegaan op de ecologie van chironomiden en oligochaeten.

Voor- en nadelen van het gebruik van de veldparameters 'totale dichtheid (en aantal soorten) chironomiden' en 'totale dichtheid (en aantal soorten) oligochaeten' zijn:

Pro:

- overall in Nederland zijn geschikte habitats te vinden;
- er bestaan relaties tussen de abundantie en de mate van toxische stress;
- het betreft ecologisch relevante maten (voedselaanbod);
- de betreffende organismen zijn makkelijk te verzamelen en te tellen.

Contra:

- determineren tot op soort vergt specialistische kennis;
- het is niet mogelijk om een scherpe grens te trekken tussen de invloed van omgevingsfactoren (bijvoorbeeld trofiegraad) en toxische stress.

Voor andere veldparameters zijn op dit moment nog te weinig basale gegevens beschikbaar om een relatie aannemelijk te kunnen maken tussen de abundantie en de mate van toxische stress en om daar dus reeds beoordelingscriteria aan te kunnen verbinden. Om meer inzicht in deze relatie te krijgen wordt echter sterk aanbevolen om ook deze veldparameters te beoordelen. Veelbelovende parameters voor de beoordeling van de ecologische kwaliteit zijn mogelijk de volgende, omdat deze betrekking hebben op organismen die voor bepaalde toxicanten gevoeliger zijn dan chironomiden en oligochaeten:

- Som aantal soorten haften, steenvliegen en kokerjuffers;
- Aantal soorten en totale dichtheid bivalven.

Indien het budget of de beschikbare taxonomische expertise het niet toelaat om de organismen tot op soort te determineren, of om de twee laatste 'aanbevolen' veldparameters te beoordelen, verdient het aanbeveling om de reeds verzamelde macrofauna (t.b.v. de parameters totale dichtheid chironomiden en oligochaeten) per monster apart te conserveren, te documenteren en te bewaren. Deze monsters kunnen dan later alsnog worden gedetermineerd en verwerkt. Het is immers zonde om deze informatie zomaar weg te gooien temeer daar voor de betreffende locaties altijd fysisch/chemische analyseresultaten beschikbaar zijn (zie verder paragraaf 6.4.1).

Pathologische effecten

Om te kunnen beoordelen of de verontreinigingen in de waterbodem pathologische effecten veroorzaken is er voor gekozen om dit te bestuderen aan de hand van het voorkomen van kaakmisvormingen bij *Chironomus* muggenlarven. De misvormingen kunnen bestaan uit extra of juist verdwenen tanden, uit onregelmatig gevormde tandenrijen of uit zogenaamde 'Khoen-gaps' (van Urk & Kerkum, 1991). Misvormingen treden waarschijnlijk op tijdens het vervellingsproces naar een volgend larvaal stadium, op het moment dat de chitine monddelen worden ontwikkeld (Grootelaar, 1993). De ecologische betekenis van misvormingen is nog niet geheel opgehelderd. Het vermoeden bestaat dat misvormde larven minder goed voedsel tot zich kunnen nemen en daardoor worden geremd in de larvale ontwikkeling (van Urk & Kerkum, 1991; Grootelaar, 1993).

Voor de parameter misvormingen is gekozen omdat in diverse onderzoeken een duidelijke, positieve correlatie tussen het percentage misvormingen en de algehele verontreinigingsgraad is aangetoond (zie referenties in Hudson & Ciborowski, 1996). Bovendien zijn *Chironomus*-larven zeer algemeen en abundant in Nederland in relatief schone, slib- en veenbodems (AquaSense, 1993a) en mede daardoor makkelijk te verzamelen. Deze parameter is bruikbaar als indicator om de biologische beschikbaarheid van verontreinigingen te signaleren en om trends in deze beschikbaarheid te monitoren (bijvoorbeeld na sanering). De parameter is echter (nog) niet bruikbaar voor prognoses omdat in laboratoriumtesten geen causale verbanden zijn gevonden tussen het gehalte van bepaalde toxicanten en het percentage kaakmisvormingen (Grootelaar,

1993). In België is deze parameter geselecteerd omdat het percentage misvormingen in elk geval voor zware metalen een beeld geeft van de chronische toxiciteit *in situ* (de Cooman, 1995). Meer bijzonderheden over deze parameter worden beschreven in paragraaf 6.4.2.

5.4 Beschrijving geselecteerde technieken

De beoordeling van een verontreinigde locatie start in alle gevallen met de:

- bemonstering (zie bijlage 7);
- monsterverwerking (zie bijlage 8);
- karakterisering van de waterbodem (zie bijlage 9).

Daarna kunnen de geselecteerde biologische beoordelingstechnieken (tabel 4) worden toegepast en de resultaten daarvan worden geïnterpreteerd. Van alle deze technieken is een gedetailleerde beschrijving gemaakt, waarbij onder andere aandacht wordt besteed aan de uitvoering, de randvoorwaarden en de geldigheidscriteria besteed wordt. Wegens de omvang hiervan zijn deze beschrijvingen in de volgende bijlagen opgenomen:

	Techniek:	Bijlage:	
Bioassays	Acute bioassays (screeningtesten):		
	Acute algentest	10	I
	Acute bacterietest	10	II
	Acute Thamnotoxkit F-test	10	III
	Acute watervlooiëntest	10	IV
	Acute Rotoxkit F-test	10	V
	Chronische bioassays:		
	Chronische watervlooiëntest	11	I
	Chronische muggenlarventest	11	II
Bioaccumulatietest	Oligochaeten bioaccumulatietest	12	I
Veldinventarisatie	Totale dichtheid (en aantal soorten) chironomiden en oligochaeten	13	I
	Kaakmisvormingen bij <i>Chironomus</i> -larven	13	II

Deze beschrijvingen bieden achtergrondinformatie en bieden tevens informatie wanneer de gebruiker op zoek is naar een test of techniek voor een andere toepassing dan binnen het kader van de Wet Bodembescherming. Om de leesbaarheid te bevorderen, en onderling vergelijken van de technieken mogelijk te maken, is voor de beschrijving een uniforme lay-out gekozen. Hierbij is per techniek de volgende onderverdeling aangehouden.

- Algemene beschrijving:** bevat de algemene opzet en de genormeerde protocollen (voor zover beschikbaar) volgens welke de technieken worden uitgevoerd. Daarnaast worden zaken als bijvoorbeeld de te gebruiken testorganismen, de testduur en het eindpunt beschreven;
- Bijzonderheden t.a.v. de uitvoering:** bevat enkele praktische aanwijzingen ten aanzien van de conventionele uitvoering en in geval van de bioassays ook ten aanzien van een voorstel voor een gemodificeerde (zie 5.5 en bijlage 14), kosten-effectievere wijze van uitvoering;
- Randvoorwaarden:** 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 beïnvloed hebben. Hierbij is op de eerste plaats uitgegaan van de randvoorwaarden zoals weergegeven in de door het RIZA geschreven 'Triade'-handleiding (Maas *et al.*, 1993);

- D. **Geldigheidscriteria:** de criteria waaraan de uitgevoerde techniek moet voldoen om het resultaat als 'geldig' te kunnen kwalificeren (dit is een voorwaarde voor een correcte beoordeling);
- E. **Beoordeling:** bevat de werkwijze die na afloop van de test gevolgd kan worden om het resultaat van de betreffende techniek te beoordelen;
- F. **Toepassingsgebied en periode:** bevat informatie over het type monster wat met de betreffende techniek kan worden beoordeeld. Tevens wordt (waar nodig) aangegeven of de techniek gedurende het gehele jaar inzetbaar is (voornamelijk met betrekking tot de veldinventarisatietechnieken);
- G. **Gevoeligheid:** hier wordt per techniek beknopt aangegeven voor welke stoffen en/of stofgroepen deze specifiek gevoelig is. De gevoeligheid per specifieke stof wordt voor alle bioassays samen weergegeven in bijlage 15;
- H. **Ervaring:** hierin wordt aangegeven welke ervaring met de betreffende techniek aanwezig is;
- 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:** hier zijn allerlei opmerkingen geplaatst die 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 11).

5.5 Verhoging kosten-effectiviteit bioassays

Bij de toepassing van bioassays kan worden overwogen om in plaats van het testen van een (conventionele) volledige verdunningsreeks poriewater (minimaal 4 of 5 concentraties), slechts één of hooguit twee concentraties poriewater te testen. Het eindpunt van de bioassays is dan niet meer het bepalen van een $L(E)C_{50}$ - of NOEC-waarde (zie begrippenlijst), maar het beoordelen of het resultaat voor de geteste concentratie significant afwijkt van het resultaat voor het blankotestmedium. Deze benadering biedt vooral bij het screenen (acute bioassays) van verontreinigde waterbodems een goede mogelijkheid om de kosten-effectiviteit te verhogen doordat:

- De gevoeligheid van de bioassays kan worden verhoogd. Het is namelijk meestal mogelijk om al bij minder dan 50% effect een significant verschil (= detectielimiet van de techniek) aan te tonen⁹, zeker wanneer het standaard aantal replica's wordt verhoogd.
- De kosten worden gereduceerd omdat het totaal aantal te testen concentraties wordt geminimaliseerd, waardoor de arbeidstijd bij het uitvoeren van de experimenten afneemt.

⁹ De beoordelingscriteria voor bioassays zijn veelal gebaseerd op de $L(E)C_{50}$ -waarden, waarbij deze waarde wordt uitgedrukt als volume% poriewater. Wanneer de $L(E)C_{50}$ -waarde hoger is dan 100 volume %, dan wordt meestal gesteld dat er géén negatief effect is waargenomen. Uitgaande van een dosis-effect-relatie (een hoger effect bij blootstelling aan een hogere concentratie: zie begrippenlijst) betekent dit dan dat er minder dan 50% effect is waargenomen in het onverdunde poriewater. Wanneer nu wordt gesteld dat reeds sprake is van een negatief effect indien er een significant verschil is tussen het testresultaat voor de blanco en de hoogste testconcentratie (100 vol.%) dan is het vaak mogelijk om ook bij minder dan 50% effect te spreken van een negatief effect.

In dit geval dienen echter wel nog de volgende twee vragen te worden beantwoord:

1. Hoeveel replica's moeten er worden beoordeeld?;
2. Welke testconcentratie(s) moet(en) worden beoordeeld?

Op beide vragen wordt in bijlage 14 een antwoord gegeven. Aangezien met deze manier van beoordeling nog géén ervaring is opgedaan, wordt aanbevolen om waargenomen negatieve effecten, na blootstelling aan een bepaalde testconcentratie poriewater, te valideren door aansluitend ook de volledige 'conventionele' (zie bijlage 10 en 11) verdunningsreeks poriewater te beoordelen.

6 MOGELIJKHEDEN VAN DE GESELECTEERDE TECHNIEKEN

6.1 Inleiding

In dit hoofdstuk worden de specifieke mogelijkheden van de geselecteerde technieken besproken ten aanzien van de:

- Beoordeling van toxische effecten (6.2):
De mogelijkheid om met acute en chronische bioassays (het ontbreken van) toxische effecten aannemelijk te kunnen maken als gevolg van blootstelling aan de gevalsbepalende verontreinigingen is onderzocht. Dit is gedaan door voor iedere problematische stof (zie hoofdstuk 1), uitgaande van het gehalte in de standaardbodem, de concentratie in poriewater te berekenen met behulp van de evenwichtpartitietheorie. Deze concentratie is vervolgens vergeleken met de gevoeligheid van de bioassays voor de betreffende stof. Op basis hiervan is een zogenaamde trefkans afgeleid om toxische effecten te kunnen detecteren (6.2.1). Deze trefkans is voor iedere stofgroep apart toegelicht nadat per stofgroep het toxisch werkingsmechanisme is beschreven (6.2.2 t/m 6.2.8);
- Beoordeling van doorvergiftigingsrisico's (6.3);
- Beoordeling van negatieve effecten in het veld (6.4):
Hierbij is een onderscheid gemaakt tussen technieken om de ecologische kwaliteit te beoordelen (6.4.1) en een techniek om pathologische effecten te beoordelen (6.4.2).

Tenslotte wordt ingegaan op aanvullende technieken en toekomstige ontwikkelingen (6.5).

6.2 Beoordeling van toxische effecten

6.2.1 Beoordeling trefkans technieken

Berekening poriewaterconcentraties m.b.v. evenwichtpartitietheorie

Het is waarschijnlijk dat voor de meeste bodemdieren toxische effecten van in waterbodems aanwezige verontreinigingen hoofdzakelijk teweeg worden gebracht via blootstelling aan, en opname van de in het poriewater opgeloste toxicanten. Bij het afleiden van ecotoxicologisch onderbouwde normen voor waterbodems wordt hier dan ook van uitgegaan (zie bijvoorbeeld: Stortelder *et al.*, 1989; van de Meent *et al.*, 1990, Beek, 1995). Hierbij wordt verondersteld dat wanneer de concentratie toxicanten in poriewater hoger is dan een bepaald toxicologisch eindpunt (meestal een chronische NOEC, zie begrippenlijst), het betreffende organisme vergiftigingsverschijnselen zal vertonen. De toetsing van verontreinigde waterbodems vindt echter plaats op basis van de totaalgehalten in het sediment (uitgedrukt in mg per kg droge stof) en niet op basis van poriewaterconcentraties. Om te kunnen beoordelen of de geselecteerde lab-bioassays voldoende gevoelig zijn om toxische effecten te kunnen detecteren als gevolg van de gevalsbepalende, lokale, problematische verontreiniging(en) (zie 1.4 en 4.2.1) moet eerst een schatting worden gemaakt van de bijbehorende poriewaterconcentraties. Deze concentraties kunnen daarna worden vergeleken met de specifieke stofgevoeligheid van de geselecteerde bioassays. Bovendien kunnen de verschillende bioassays op basis hiervan worden gerangschikt op gevoeligheid, zodat per stof de meest 'kansrijke' techniek kan worden aangegeven.

Voor het inschatten van de concentratie poriewater op basis van de totale sedimentconcentratie, kan gebruik worden gemaakt van de evenwichtspartitiemethode (afgekort EP-methode). Deze methode is gebaseerd op de theorie dat er in een evenwichtssituatie een bepaalde verhouding bestaat tussen de hoeveelheid toxicant die gebonden is aan de waterbodem en de hoeveelheid die opgelost is in het (porie)water. Hoewel er kritische kanttekeningen bij de EP-methode worden geplaatst door de

Technische Commissie Bodembescherming (TCB) en de Gezondheidsraad, wordt de methode door beide instanties als acceptabel beschouwd omdat er eigenlijk geen beter alternatief voorhanden is (o.a. Beek, 1995). Voor metalen en organische microverontreinigingen is op basis van de EP-theorie de volgende formule¹⁰ afgeleid voor de standaardbodem (van der Kooij *et al.*, 1991):

$$C_{\text{sed}} = \frac{K_{\text{p(zwevende stof)}} \times C_{\text{w}}}{r} \quad \text{of} \quad C_{\text{w}} = \frac{C_{\text{sed}} \times r}{K_{\text{p(zwevende stof)}}} \quad (1)$$

Waarbij:

- C_{sed} = gehalte van de betreffende stof in het sediment (mg/kg);
 C_{w} = concentratie van de betreffende stof in (porie)water (mg/l);
 $K_{\text{p(zwevende stof)}}$ = partiticoëfficiënt tussen vaste fase en water (l/kg zwevende stof);
 r = empirisch bepaalde ratio voor de 'concentratie in zwevende stof': 'concentratie in sediment'.
 Voor metalen $r = 1,5$ en voor organische stoffen $r = 2$.

De K_{p} -waarden zijn voor iedere stof anders en zijn in geval van metalen bepaald uit veldmetingen. In geval van organische microverontreinigingen zijn deze op en theoretische wijze bepaald (voor formules: zie van der Kooij *et al.*, 1991).

Metalen

De K_{p} -waarden voor metalen zijn sterk afhankelijk van fysisch-chemische factoren in het water zoals het zoutgehalte, pH, en zuurstofgehalte. Voor enkele Nederlandse (rijks)wateren zijn op basis van een groot aantal meetgegevens uit de monitoringperiode 1983 t/m 1986, gemiddelde K_{p} -waarden berekend voor chroom, koper, kwik, cadmium, zink, nikkel, lood en arseen. Hieruit blijkt dat de laagste en hoogste K_{p} -waarden een factor 3,4 (arseen) tot 12,4 (koper) van elkaar kunnen verschillen. Voor berekeningen in INS-kader wordt gekozen voor de mediane K_{p} -waarden (zie bijlage 16). Onbekend is echter in hoeverre deze waarden ook bruikbaar zijn voor berekeningen aan regionale watersystemen. Indien echter wordt uitgegaan van de laagste in rijkswateren gevonden K_{p} -waarden, dan leidt dit tot hogere theoretische concentraties, en derhalve tot een hogere theoretische toxiciteit dan wanneer van mediane K_{p} -waarden wordt uitgegaan. Als de werkelijke K_{p} -waarden hoger zijn, dan leidt dit tot een overschatting van de detecteerbaarheid van metaaltoxiciteit.

Wanneer voor r de waarde 1,5 wordt gesubstitueerd, kan (1) worden gebruikt voor de berekening van de concentratie metalen in poriewater. Bij de berekening wordt uitgegaan van de naar standaardbodem (10 % organische stof en 25% lutum) omgerekende gehalten.

Organische microverontreinigingen

Voor standaardbodems zijn de theoretisch bepaalde K_{p} -waarden, zoals gebruikt in INS-kader, voor de meest problematische organische micro-verontreinigingen weergegeven in bijlage 16. Het verdient echter de voorkeur om uit te gaan van de gemeten, niet gestandaardiseerde gehalten in de waterbodem omdat dan rekening kan worden gehouden met de fractie organisch koolstof. Dit is wenselijk omdat organisch koolstof als oplosmiddel werkt voor organische stoffen (van Straalen & Verkleij, 1991). Voor standaardbodems wordt uitgegaan van een organisch koolstoffractie (f_{oc}) van 0,0588 (5,88%, Kalf *et al.*, 1995). Het verband tussen K_{p} , f_{oc} en K_{oc} (organisch koolstof genormaliseerde partiticoëfficiënt) wordt weergegeven door (Karickhoff *et al.*, 1979, in van der Kooij *et al.*, 1991):

¹⁰Deze formule wordt ook gehanteerd in het kader van de Integrale Normstelling Stoffen (INS).

$$K_p = f_{oc} \times K_{oc} \quad (2)$$

Waarbij:

- K_p = partiticoëfficiënt tussen vaste fase en water (l/kg zwevende stof);
 f_{oc} = fractie organisch koolstof (dimensieloos);
 K_{oc} = organisch koolstof genormaliseerde partiticoëfficiënt (l/kg organisch koolstof).

In bijlage 16 worden achter de K_p -waarden de bijbehorende K_{oc} -waarden vermeld, zoals berekend met formule (2) en uitgaande van een fractie organisch koolstof van 0,0588 (standaardbodem).

Na substitutie van formule (2) in formule (1) wordt de volgende formule verkregen, die kan worden gebruikt voor de berekening van de concentratie organische microverontreinigingen in poriewater, rekening houdend met het organisch koolstof gehalte¹¹ van het sediment:

$$C_w = \frac{C_{sed} \times 2}{f_{oc} \times K_{oc}} \quad (3)$$

Waarbij:

- C_w = concentratie van het betreffende metaal in (porie)water (mg/l);
 C_{sed} = gehalte van het betreffende metaal in het sediment (mg/kg);
 f_{oc} = fractie organisch koolstof (dimensieloos);
 K_{oc} = organisch koolstof genormaliseerde partiticoëfficiënt (l/kg organisch koolstof).

De EP-theorie gaat op voor neutrale (niet polaire) organische microverontreinigingen. Voor zéér hydrofobe ($\log K_{ow} > 7$, zie van Straalen & Verkleij, 1991) en polaire organische verbindingen en voor verbindingen die gemakkelijk afbreekbaar zijn kan deze formule (3) echter niet worden gebruikt. In het algemeen kan echter worden gesteld dat de EP-theorie opgaat voor organische stoffen met een narcotiserende werking (zie 4.2.2), omdat deze meestal stabiel en niet-polair zijn (van der Kooij *et al.*, 1991).

Bepaling trefkans o.b.v. poriewaterconcentraties

Een hulpmiddel bij het beoordelen van de trefkans op het detecteren van toxiciteit op basis van de gevoeligheden van de geselecteerde lab-bioassays, is het werken met trefkanseenheden (afgekort TE's). Eén TE is gelijk aan de concentratie van een bepaalde stof in (porie)water (C_w) gedeeld door de EC_{50} of LC_{50} of, in geval van de chronische watervlooiëntest, gedeeld door de chronische $LOEC_{reproductie}$ voor die stof (4).

$$\text{Trefkanseenheid (TE)} = \frac{\text{actuele concentratie stof X in (porie)water } (\mu\text{g/l})}{E(L)C_{50} \text{ of } LOEC_{reproductie} \text{ stof X } (\mu\text{g/l})} \quad (4)$$

¹¹Zie bijlage 8-II voor de formule voor het afleiden van het % organisch koolstof uit het percentage organische stof.

Voorbeeld voor de berekening van TE

De (berekende) concentratie van stof X in het poriewater bedraagt 5 µg/l. De LC_{50} voor *Daphnia magna* van stof X is 3 µg/l. De TE is dan $5/3 = 1,67$.

Een TE van 1 houdt in dat in theorie na blootstelling aan de betreffende concentratie, 50% van de watervlooien dood gaat. De TE-waarde in het voorbeeld (1,67) ligt echter boven de 1. Dit monster zal daarom naar verwachting toxisch zijn, en meer dan 50% van de watervlooien zal sterven.

Voor een aantal stoffen is voor de geselecteerde testorganismen (tabel 4) in de literatuur of in toxiciteitdatabestanden géén $L(E)C_{50}$ -waarde maar bijvoorbeeld wel een NOEC of LOEC-waarde (zie begrippenlijst) gevonden. In sommige gevallen was de gegeven blootstellingsduur duidelijk afwijkend van de gewenste blootstellingsduur. Om zoveel mogelijk gebruik te maken van vergelijkbare gegevens is er daarom voor gekozen om de toxicologische gegevens uit de literatuur te standaardiseren naar de gewenste blootstellingsduur en naar $L(E)C_{50}$ -waarden, of, in geval van de chronische watervlooiëntest, $LOEC_{\text{reproductie}}$ -waarden. De hierbij gemaakte keuzen (zie bijlage 17) zijn, voor zover mogelijk, afgestemd op de methodiek zoals gangbaar in het kader van de INS¹². Een overzicht van de specifieke gevoeligheden per testorganisme wordt gegeven in bijlage 15.

De TE's van stoffen met een vergelijkbaar werkingsmechanisme (zie 4.2.2) kunnen bij elkaar worden opgeteld. Wanneer de $\sum TE \geq 1$ dan wordt in theorie 50% effect of meer verwacht en is er dus een reële kans op het detecteren van toxiciteit. Rekening houdend met de mogelijkheid dat al bij minder dan 50% effect significante verschillen aantoonbaar zijn (zie 5.5 en bijlage 14), en rekening houdend met de kans op een verhoogde biologische beschikbaarheid van stoffen, is gesteld dat er nog tot een $\sum TE$ -waarde van 0,1 een mogelijke kans bestaat op het detecteren van toxiciteit. Bij nog lagere $\sum TE$ -waarden is het zeer onwaarschijnlijk dat een eventueel negatief effect wordt veroorzaakt door de onderzochte problematische stofgroep. De gradaties in trefkans gebaseerd op de $\sum TE$ -waarde zijn weergegeven in tabel 5.

Tabel 5 Trefkans op detectie van toxiciteit op basis van de per stofgroep gesommeerde trefkanseenheden (TE: zie tekst).

Trefkans	$\sum TE$	code
nihil	$\sum TE < 0,1$	-
mogelijk	$0,1 \leq \sum TE < 1$	+/-
reëel	$\sum TE \geq 1$	+

In bijlage 18 worden, uitgaande van de standaardbodem, per stof(groep) en per techniek de TE-waarden weergegeven in geval sprake is van stofgehalten precies ter hoogte (0% overschrijding) van de laagste (meest ernstige) norm volgens de Evaluatienota Water (1994). Voor zware metalen is dit de signaleringswaarde en voor de organische microverontreinigingen is dit in de meeste gevallen de interventiewaarde. Voor deze notatie is gekozen omdat de standaarduitvoer van LAWABO (zie bijlage 8-II) ook deze overschrijdingspercentages weergeeft.

¹²In het kader van INS worden toxiciteitdata gevalideerd. Deze data waren op het moment van afronding van dit rapport nog niet beschikbaar en konden derhalve niet worden overgenomen. Wanneer deze data beschikbaar zijn, verdient het de voorkeur om deze gevalideerde data te gebruiken. Hierdoor is het mogelijk dat een aantal toxiciteitwaarden veranderen, afvallen of ontbrekende waarden worden toegevoegd. Dit heeft dan uiteraard consequenties voor de TE's voor de betreffende stoffen.

Tabel 6. Overschrijdingspercentages van de aangegeven norm vanaf waar een theoretische kans (TE > 0.1, zie tabel 5) bestaat op het detecteren van toxiciteit (zie tekst). Sommige waarden zijn tussen haakjes gezet omdat de trefkans hier is gebaseerd op een afgeleide toxiciteitswaarde (zie bijlage 15 en 18) ('?' = onbekend, SIGN = signaleringswaarde, IW = interventiewaarde, TW = toetsingswaarde, som = somnorm voor stofgroep: zie tekst voor uitleg).

		Acute bioassays					Chronische bioassays	
	norm	<i>Alg</i>	<i>Bacterie</i>	<i>T. plat-yurus</i>	<i>D. magna</i>	<i>B. calyciflorus</i>	<i>D. magna</i>	<i>C. riparius</i>
Metalen								
Arseen	SIGN	(100)	> 1000	(400)	400	> 1000	150	?
Cadmium	SIGN	> 1000	> 1000	> 1000	500	> 1000	(50)	(> 1000)
Chroom	SIGN	250	> 1000	0	100	> 1000	0	(> 1000)
Koper	SIGN	0	50	0	0	0	(0)	(0)
Kwik	SIGN	(> 1000)	750	> 1000	200	> 1000	(50)	(> 1000)
Lood	SIGN	> 1000	250	> 1000	750	> 1000	(0)	(> 1000)
Nikkel	SIGN	50	> 1000	500	50	1000	0	?
Zink	SIGN	0	100	0	0	750	(0)	(50)
PAK's*								
Anthraceen	IWsom	(0)	0	(0)	(0)	?	0	(0)
Benzo(a)anthraceen	IWsom	?	> 1000	(0)	(0)	?	(0)	?
Benzo(a)pyreen	IWsom	0	?	(0)	(0)	?	(0)	?
Benzo(ghi)peryleen	IWsom	?	?	(0)	(0)	?	(0)	?
Benzo(k)fluorantheen	IWsom	?	?	(0)	(0)	?	(0)	?
Chryseen	IWsom	?	?	(0)	0	?	(0)	?
Fenantreen	IWsom	(0)	0	(100)	100	?	(0)	(0)
Fluorantheen	IWsom	> 1000	1000	(0)	(0)	?	(0)	(0)
Naftaleen	IWsom	1000	0	(0)	0	?	(0)	(0)
Indeno(1,2,3)pyreen	IWsom	?	?	?	?	?	?	?
PCB's**	IWsom	?	?	?	?	?	?	?
OCB's								
Aldrin	IWsom	?	?	(450)	450	?	(50)	(0)
Dieldrin	IWsom	(> 1000)	?	(> 1000)	> 1000	?	(> 1000)	(0)
Endrin	IWsom	(> 1000)	?	(0)	0	?	(0)	(0)
DDT	IWsom	(50)	750	(0)	0	?	(0)	(0)
DDD	IWsom	?	?	(0)	0	?	(0)	(0)
DDE	IWsom	?	?	?	?	?	?	(0)
Endosulfan (alfa-)	TWsom	(> 1000)	?	(> 1000)	> 1000	> 1000	(500)	(0)
alfa-HCH	IWsom	(1000)	?	(350)	350	?	(50)	?
beta-HCH	IWsom	(> 1000)	?	(> 1000)	(> 1000)	?	(450)	?
gamma-HCH	IWsom	(500)	> 1000	(50)	50	?	(0)	(0)
Heptachloor	TWsom	> 1000	?	(> 1000)	> 1000	?	(> 1000)	(100)
Heptachloorepoxide	TWsom	?	?	(> 1000)	> 1000	?	(750)	?
HCB	IWsom	250	?	(100)	100	?	(0)	?
Minerale olie	IW	?	?	(> 1000)	> 1000	?	(750)	?

*: Toxiciteitgegevens voor PAK's meestal afkomstig van testen uitgevoerd bij continue belichting. De toxiciteit is hierdoor met name het gevolg van PAK-metabolieten ontstaan na foto-oxydatie (zie toelichting bij 6.2.3);

** : Voor PCB's zijn voor geen van de technieken toxiciteitsdata beschikbaar, derhalve is de trefkans voor ieder percentage normoverschrijding onbekend.

NB: 0% normoverschrijding → stofgehalte precies ter hoogte van de norm;

100% normoverschrijding → stofgehalte factor 2 hoger dan bij 0% overschrijding.

Meestal bestaan er voor individuele organische stoffen (bijvoorbeeld PAK's, chloorbenzenen, drins en HCH-verbindingen) geen interventiewaarden. Voor individuele stoffen is deze derhalve gelijk gesteld aan de 'sommnorm' voor de betreffende stofgroep. Dit vanuit de gedachte dat indien één individuele stof deze norm overschrijdt, de sommnorm automatisch boven de gestelde norm uitkomt. Voor endosulfan en heptachloor(epoxide) is ook voor de sommnorm geen interventiewaarde beschikbaar en is derhalve de toetsingswaarde als laagste norm genomen. In bijlage 18 zijn géén PCB's opgenomen omdat hiervoor in de literatuur helemaal géén toxiciteitwaarden zijn teruggevonden. In tabel 6 worden de resultaten van de vergelijking van de gevoeligheden van de individuele technieken samengevat weergegeven.

6.2.2 Metalen

Toxiciteit

De opname van zware metalen door bentische organismen vanuit het sediment verloopt grotendeels via het poriewater (van Straalen & Verkleij, 1991). Over hoe het daarna in het organisme verder gaat, en uiteindelijk toxische effecten optreden, is nog weinig tot in detail bekend. 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 verdringsreacties 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 oxydatieve 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).

Ondanks het feit dat sprake is van diverse werkingsmechanismen, zijn er duidelijke aanwijzingen dat de effecten van de verschillende metalen die in hetzelfde water voorkomen bij elkaar kunnen worden opgeteld. Op het niveau van acute toxiciteit zijn effecten additief (optelbaar) en soms zelfs synergistisch (versterkend) (Stortelder *et al.*, 1989). Bij het voorkomen van verschillende metalen in problematische gehalten in de waterbodem kan dus een inschatting van de combinatietoxiciteit worden gemaakt door de trefkanseenheden (zie 6.2.1) te sommeren.

Trefkans

Bij kopergehalten precies ter hoogte van de signaleringswaarde (0% normoverschrijding), bestaat er voor alle geselecteerde testorganismen, met uitzondering van de bacteriën, een theoretische trefkans op het detecteren van toxiciteit. Bij 50% overschrijding van deze norm is er ook voor de bioassay met bacteriën een mogelijke trefkans op het detecteren van kopertoxiciteit. De bioassays met algen, *Thamnocephalus platyurus*, *Daphnia magna* (acuut en chronisch) en *Chironomus riparius* zijn mogelijk ook in staat om toxiciteit van zinkgehalten ter hoogte van de signaleringswaarde te detecteren. Verder zijn er per testorganisme grote verschillen in de gevoeligheden per metaal. Ook verschilt de gevoeligheid per metaal aanzienlijk tussen de verschillende testorganismen. De kreeftachtigen (*D. magna* en *T. platyurus*) lijken in het algemeen het meest gevoelig voor zware metalen. Met de chronische *Daphnia*-test lijkt het bijvoorbeeld voor 5 van de 8 metalen mogelijk om toxiciteit te detecteren bij gehalten ter hoogte van de signaleringswaarde (zie tabel 6 en bijlage 18).

6.2.3 PAK's

Toxiciteit

Polycyclische aromatische koolwaterstoffen (PAK's) zijn organische verbindingen, opgebouwd uit twee of meerdere gefuseerde aromatische benzeenringen. De fysisch-chemische eigenschappen van

PAK's worden sterk bepaald door het molecuulgewicht. Hoe hoger dit gewicht, hoe slechter deze oplossen in water en geringer de vluchtigheid. Desondanks zijn zelfs de 'lichtste' PAK's ($\log K_{ow}$ iets groter dan 3) reeds lipofiel en dus slecht in water oplosbaar. De biologische eigenschappen worden bepaald door de onderlinge posities van de ringstructuren en de aanwezige substituties (van Straalen & Verkleij, 1991).

PAK's hebben een narcotiserende werking (zie 4.2.2) en de toxiciteit neemt toe bij een toenemende $\log K_{ow}$ (toenemende hydrofobiteit) (Kalf *et al.*, 1995). De concentratie van PAK's in waterbodems is echter meestal te laag om acute, narcotiserende effecten te mogen verwachten. Door verschillende processen vindt transformatie en afbraak plaats van PAK's. De belangrijkste processen zijn foto-oxydatie, chemische oxydatie en biologische transformatie door bacteriën, schimmels en dieren. Meestal verlopen deze processen alleen bij aanwezigheid van zuurstof of zonlicht of beide. PAK's zijn daardoor vrij stabiel en persistent in diepe waterbodems (Neff, 1985). In ondiep, helder water vindt foto-oxydatie plaats onder invloed van zonlicht (UV-A en B-straling en zichtbaar licht). De gefotoactiveerde PAK-moleculen kunnen direct schade aan weefsels toebrengen of indirect via het induceren van de aanmaak van vrije zuurstofradicalen (Kalf *et al.*, 1995). In deze gevallen is niet meer sprake van een narcotiserende werking, maar van een specifiek werkingsmechanisme. Bij de afbraak van PAK's via biotransformatie kunnen zeer toxische, mutagene en carcinogene intermediären ontstaan. Het 'cytochroom P-450 (enzym) Mixed Function Oxidase systeem' (MFO) speelt bij deze afbraak een grote rol. Tussen evertetraten bestaan grote verschillen in MFO-activiteit en dus in de mogelijkheid om PAK's af te kunnen breken. Oligochaeten (*Stylodrilus heringianus*) en zoetwaterpissebedden (*Asellus aquaticus*) blijken bijvoorbeeld PAK's niet of nauwelijks te kunnen omzetten in tegenstelling tot de muggenlarve *Chironomus riparius*, die dit wel kan (van Hattum, 1995).

Een van de best onderzochte voorbeelden van biotransformatie van PAK's is de afbraak van benzo(a)pyreen (BaP). BaP kan kanker veroorzaken doordat een van de afbraakprodukten, die door de inwerking van MFO wordt gevormd, zich hecht aan DNA. Hierdoor wordt de vorming van tumoren geïnitieerd (zie ook 6.5.1). Dit kan een mogelijke oorzaak zijn voor de verhoogde frequentie van afwijkingen in vispopulaties in vervuilde gebieden. Het is echter ook mogelijk dat andere verontreinigende stoffen, ioniserende straling en virusinfecties hierbij een rol kunnen spelen (van Straalen & Verkleij, 1991).

Er is niet veel bekend over de combinatietoxiciteit van PAK's. Meestal wordt echter uitgegaan van een narcotiserende werking en dus vergelijkbaar werkingsmechanisme waardoor effecten kunnen worden opgeteld (zie 4.2.2). Toch zijn er aanwijzingen dat niet alle PAK's dezelfde werking hebben zodat niet zonder meer kan worden uitgegaan van additiviteit (Kalf *et al.*, 1995). Voor een indicatieve beoordeling van de toxiciteit van een mengsel van PAK's wordt hier in het vervolg van dit rapport echter wel van uitgegaan.

Trefkans

Bij het inschatten van de trefkans op het aantonen van PAK-toxiciteit (tabel 6) is uitgegaan van toxiciteitsdata die meestal zijn verkregen uit experimenten die bij (continue) belichting zijn uitgevoerd. De hierdoor geïnitieerde specifieke werkingsmechanismen (zie hierboven) veroorzaken in tegenstelling tot de narcotiserende werking van niet getransformeerde PAK's wel acute toxische effecten. Voor het aantonen van een maximaal effect ('worst case' benadering) lijkt het derhalve raadzaam om in geval van PAK-verontreiniging alle bioassays uit te voeren bij een continue belichting.

Voor de meeste PAK's bestaat er reeds bij gehalten ter hoogte van de interventiewaarde (0% normoverschrijding) een theoretische trefkans op het detecteren van toxiciteit met de kreeftachtigen (*Daphnia magna* en *Thamnocephalus platyurus*). Meestal liggen de individuele TE-waarden ruim boven de 1, waardoor de trefkans op het detecteren van PAK-toxiciteit als (zeer) reëel wordt ingeschat. Voor een aantal PAK's zijn geen toxiciteitsdata beschikbaar voor de bioassays met algen, bacteriën en muggenlarven. Voor een aantal andere PAK's, waarvoor wel data beschikbaar zijn, is

het ook mogelijk om reeds toxiciteit van gehalten ter hoogte van de interventiewaarde te detecteren. Voor *Brachionus calyciflorus* zijn géén toxiciteitgegevens beschikbaar, waardoor niets kan worden gezegd over de trefkans met dit organisme (zie tabel 6 en bijlage 18).

6.2.4 PCB's

Toxiciteit

Er bestaan 209 verschillende PCB's (congeneren) die van elkaar verschillen in de plaatsen waar chlooratomen zijn gebonden (gesubstitueerd) aan de twee, met elkaar verbonden, aromatische benzeenringen (fenylringen). Door het verschil in de wijze van rangschikking van deze chlooratomen bestaan zeer grote verschillen in toxiciteit. Deze rangschikking bepaalt namelijk of de fenylringen al of niet in hetzelfde vlak liggen. De vlakke (coplaire) structuur blijkt het meest toxisch te zijn en ook het beste te accumuleren (Leonards, 1997). De milieugevaarlijkheid van deze stoffen is vooral gelegen in de chronische toxiciteit (met name effecten op reproductie), de carcinogene werking en de vruchtbeschadigende (teratogene) werking (van Straalen & Verkleij, 1991). Naar de mechanismen achter de effecten wordt nog volop onderzoek gedaan. PCB-metabolieten (afbraakprodukten) kunnen bijvoorbeeld negatieve effecten veroorzaken in de vitamine A- (speelt een rol in het afweersysteem) en schildklierhormoonhuishouding bij organismen hoger in de voedselketen. Leonards vond bijvoorbeeld bij otters een indicatie voor een verminderd afweersysteem als gevolg van blootstelling aan PCB's via consumptie van met PCB's verontreinigde vissen (Leonards, 1997).

Net als bij PAK's wordt bij PCB's uitgegaan van een narcotiserende werking zodat de effecten van de individuele PCB-congeneren optelbaar zijn (zie 4.2.2).

Trefkans

In de literatuur en toxiciteitdatabestanden konden géén toxiciteitgegevens over PCB's worden gevonden voor de geselecteerde testorganismen. Bekend is echter wel dat negatieve effecten over het algemeen pas worden verwacht bij zeer lange blootstelling (zie hierboven) en bij (top)predatoren die via biomagnificatie (zie 6.3) hoge interne PCB-gehalten bereiken. Voor het aantonen van negatieve effecten als gevolg van PCB-verontreiniging lijkt het toepassen van de geselecteerde lab-bioassays derhalve weinig zinvol. Het kan echter niet worden uitgesloten dat langdurige blootstelling in het veld wel tot negatieve effecten leidt, welke eventueel waarneembaar zijn met de geselecteerde veldtechnieken (tabel 4).

6.2.5 Organochloorbestrijdingsmiddelen

Toxiciteit

Organochloorbestrijdingsmiddelen (OCB's) worden gebruikt bij de bestrijding van plaaginsecten en vormen de verzamelnaam voor een grote groep van verbindingen. Routinematig (M-lijst) worden in waterbodems de OCB's (alfa- en sulfaat-) endosulfan, gamma-hexachloorcyclohexaan (gamma-HCH: lindaan), HCH-verbindingen gesommeerd en pentachloorfenol gemeten. Projectmatig (I-lijst) worden ook nog drins (al-, diel- en endrin), DDT (en derivaten), individuele HCH's, heptachloor, heptachloorepoxide en chloordaan gemeten. OCB's zijn in het algemeen zeer toxisch voor een breed scala aan insecten. De werking berust op de remming van de prikkeloverdracht in zenuwcellen waardoor de werking van spieren wordt verstoord (van Rijn *et al.*, 1995).

Omdat de stoffen in deze groep verwante werkingsmechanismen hebben, geldt voor de OCB's een combinatietoxiciteit (Stortelder *et al.*, 1989). De effecten kunnen daarom worden opgeteld (concentratie-additie).

Trefkans

De chronische bioassay met de muggenlarve *Chironomus riparius* lijkt in theorie gevoelig genoeg om, bij gehalten ter hoogte van de interventiewaarde (0% normoverschrijding), toxiciteit voor een groot deel van de OCB's aan te kunnen tonen. *C. riparius* is met name gevoelig voor gamma-HCH (TE = 49,5 bij 0% normoverschrijding). Bij dergelijke Endrin-, DDT- en DDD-gehalten bestaat er ook voor de acute en chronische bioassays met kreeftachtigen een theoretische trefkans op het detecteren van toxiciteit. Bij 50% normoverschrijding lijkt dit met kreeftachtigen ook mogelijk voor gamma-HCH. Voor *Brachionus calyciflorus* zijn, met uitzondering van endosulfan, géén toxiciteitgegevens beschikbaar voor OCB's, waardoor geen uitspraak mogelijk is over de trefkans met dit organisme (zie tabel 6 en bijlage 18).

6.2.6 Hexachloorbenzeen

Toxiciteit

Hexachloorbenzeen (HCB) is één van de verbindingen uit de totale groep van 12 chloorbenzenen. Deze verbindingen worden gekenmerkt door een basisstructuur bestaande uit een benzeenring, waaraan één (monochloorbenzeen: MCB) tot alle zes (HCB) waterstofatomen zijn vervangen door chlooratomen. Chloorbenzenen worden in Nederland gebruikt als oplosmiddel en als grondstof in diverse takken van industrie (o.a. de bestrijdingsmiddelenindustrie). Hierbij komt HCB vrij als afvalstof. De log K_{ow} neemt globaal toe met de mate van chlorering: van 2,8 (Sloof *et al.*, 1991) voor MCB tot 6,2 voor HCB (van der Kooij *et al.*, 1991). HCB is daarmee dus zeer hydrofoob en lipofiel. In het algemeen neemt de toxiciteit van chloorbenzenen toe met de mate van chlorering en daarmee de lipofiliteit. HCB is de meest toxische verbinding. In testen met ratten en konijnen beïnvloedde oraal toegediend HCB het immuunsysteem, verstoorde het metabolisme, zorgde voor een toename in gewicht van lever en nieren en induceerde de aanmaak van leverenzymen (Sloof *et al.*, 1991). De toxiciteitgegevens voor aquatische organismen zijn beperkt (zie hierna). Voor chloorbenzenen wordt aangenomen dat ze een algemene narcotiserende werking hebben (Stortelder *et al.*, 1989).

Trefkans

Bij HCB-gehalten precies ter hoogte van de interventiewaarde (0% normoverschrijding) bestaat er alleen met de chronische bioassay met *Daphnia magna* een reële trefkans op het detecteren van HCB-toxiciteit (TE = 2,9). Vanaf 100% overschrijding van deze norm komt daar een trefkans voor de acute bioassay met *D. magna* en *Thamnocephalus platyurus* bij, en bij 250% overschrijding is er ook met algen een mogelijke trefkans op het detecteren van HCB-toxiciteit. De trefkans bij de bioassays met bacteriën, *Brachionus calyciflorus* en *Chironomus riparius* is onbekend vanwege het ontbreken van toxiciteitdata voor deze organismen (zie tabel 6 en bijlage 18).

6.2.7 Minerale olie

Toxiciteit

Minerale olie is een complex mengsel van zeer veel verschillende stoffen waardoor chemische analyse van alle afzonderlijke componenten onmogelijk en ook weinig zinvol is. Er bestaan vele soorten minerale olie die ecotoxicologisch gezien van elkaar verschillen. Olie heeft een grote affiniteit voor organisch materiaal en accumuleert daarom in organismen (Stortelder *et al.*, 1989). Minerale olie bestaat voor 50 tot 98% uit koolwaterstoffen (Clark & Brown, 1977). De 5 belangrijkste stofgroepen zijn (Scholten *et al.*, 1993): alkanen, cycloalkanen, monocyclische aromaten (benzeen, toluen, xyleen) en di- en polycyclische aromaten (PAK's: zie 6.2.3 voor gegevens over de toxiciteit van deze groep).

Minerale olie wordt als bestrijdingsmiddel gebruikt tegen eieren van spint en wantsen. Ook wordt het gebruikt als hulpstof in insecticiden en herbiciden. De meeste componenten van minerale olie zijn weinig giftig (acute $EC_{50} > 10$ mg/l en chronische $NOEC > 0,1$ mg/l) voor vissen, kreeftachtigen en insecten. Dit inzicht in de toxiciteit is gebaseerd op slechts een paar literatuurgegevens. Voor algen zijn er géén toxiciteitgegevens (van Rijn *et al.*, 1995). Een bijkomend probleem van minerale olie is dat in sloten en rivieren een niet zuurstofdoorlatende film op het wateroppervlak wordt gevormd, waardoor diepere lagen volledig worden afgesloten voor zuurstof (van Rijn *et al.*, 1995).

Een goed overzicht van de toxische effecten van olie in aquatische milieus wordt gegeven door Scholten *et al.* (1993 en 1996). Van koolwaterstoffen (hoofdbestanddeel minerale olie, zie boven) is bekend dat ze een narcotiserende en dus vergelijkbare werking hebben. De toxiciteit van deze stoffen kan derhalve worden opgeteld (zie 4.2.2). Hierbij neemt de mate van toxiciteit toe met de mate van lipofiliteit: bezeen < toluen < xyleen < naftaleen. Het betreft hier echter inzicht gebaseerd op literatuurgegevens (acute EC_{50} en chronische $NOEC$'s) van relatief kortdurende toxiciteitstesten. Bij langer durende testen kunnen aromaten wel een specifiek werkingsmechanisme vertonen, waardoor bijvoorbeeld de hormoonhuishouding wordt verstoord of mutagene en/of carcinogene effecten kunnen worden waargenomen.

Met name de in water oplosbare fracties van minerale olie kunnen acute toxische (narcotiserende) effecten veroorzaken. Dit betreft vooral de mono- en di-aromaten en de (cyclo)alkanen en alkenen met een maximale lengte van 11 koolstofatomen. Doordat deze componenten echter min of meer vluchtig zijn en relatief makkelijk afbreken, zullen deze minder snel ophopen in de waterbodem dan de meer lipofiele en stabiele PAK's. Deze laatste groep wordt geaccumuleerd door bentische organismen en via de voedselketen doorgegeven aan hogere organismen. Voor zowel de pelagische als de bentische organismen lijkt het contactrisico met de oliesubstantie (fractie C12-C24 alkanen en alkenen) groter (zie hierna) dan de toxische effecten van de afzonderlijke koolwaterstoffen.

Een belangrijk aspect bij de ecotoxicologische risicobeoordeling van olie in waterbodems is waarschijnlijk dat, zoals geconstateerd werd in bioassays met de zoutwater slijkgarnaal *Corophium volutator*, contact met olie primair verantwoordelijk is voor negatieve effecten op organismen. Het gaat hierbij dan met name om de fractie C12-C24 alkanen die een olieachtige substantie vormt (samengevat uit Foekema *et al.*, *in prep.*, door Scholten *et al.*, 1996). Verder is bekend dat de ecotoxicologische risico's van olie door verwerking duidelijk afnemen (Scholten *et al.*, 1996).

Trefkans

In de literatuur zijn vrijwel géén toxiciteitwaarden van minerale olie (als totaal mengsel) voor de geselecteerde testorganismen (tabel 4) te vinden. Alleen voor de acute bioassay met *Daphnia magna* is een $LC_{50, 48 \text{ uur}}$ -waarde gevonden van 32 mg/l (van Rijn *et al.*, 1995). Hiervan is, op de wijze zoals beschreven in bijlage 18, een toxiciteitwaarde afgeleid voor de kreeftachtige *Thamnocephalus platyurus* en voor de chronische bioassay met *D. magna* (zie bijlage 15). Op basis van deze (afgeleide) waarden blijkt er pas vanaf 750% overschrijding van de interventiewaarde, en dan alleen met de chronische bioassay met *Daphnia magna*, een trefkans aanwezig op het detecteren van toxiciteit van minerale olie. Voor de acute bioassay met *D. magna* en de bioassay met *T. platyurus* ligt deze trefkans boven de 1000% overschrijding van deze norm.

Uit veldwaarnemingen voor muggenlarven blijkt verder nog dat blootstelling aan olie kan resulteren in negatieve effecten op *Tanypodinae* en *Chironomidae*, wat vervolgens weer kan resulteren in een toename van *Orthocladiinae* (samengevat uit Green & Trett, 1989 door Scholten *et al.*, 1996).

6.3 Beoordeling van doorvergiftigingsrisico's

Biomagnificatie van stoffen

Van sommige toxicanten (met name narcotiserende, lipofiele verbindingen) is bekend dat de concentraties in het sediment vaak te laag zijn om effecten (sterfte, groei, reproductie) in lab-bioassays te kunnen aantonen. Op lange termijn kunnen deze echter wel problemen veroorzaken omdat ze uit het water (bioconcentratie) en/of uit het voedsel (bioaccumulatie) worden opgenomen in een organisme en via de voedselketen worden doorgegeven en ophopen in hogere organismen (doorvergiftiging naar vogels en zoogdieren). Dit proces van doorvergiftiging via de voedselketen wordt biomagnificatie genoemd. Een goed voorbeeld van biomagnificatie is de toename van het PCB-gehalte in het aquatische voedselweb. Leonards toonde in de 'Oude Venen' (Friesland) een zeer duidelijke toename van het gehalte van gechloreerde bifenylen aan in de volgorde: sediment < evertrebraten < omnivore en benthivore vissen < otters (Leonards, 1997). Er bestaan 209 verschillende PCB-congeneren die onderling zeer verschillen in de mate waarin ze bioaccumuleren en kunnen worden afgebroken door organismen (biodegradatie). Ook de toxiciteit is zeer verschillend (zie 6.2.4).

Biomagnificatie doet zich ook voor bij de andere problematische stofgroepen: metalen, PAK's, OCB's, hexachloorbenzeen. Bij deze stofgroepen kunnen in tegenstelling tot de PCB's vaak wel al bij de laagste trofische niveaus toxische effecten worden verwacht na blootstelling aan ernstig verontreinigde waterbodems (zie 6.2). Maar ook bij hogere trofische niveaus kunnen effecten optreden als gevolg van doorvergiftiging. Door het gebruik van organochloorbestrijdingsmiddelen (zoals DDT, dieldrin en aldrin) is bijvoorbeeld de vogelstand in Nederland in de zestiger jaren sterk achteruit gegaan. Het effect was het sterkst waarneembaar bij toppredatoren zoals roofvogels. Door het verbod op DDT en drins herstelde de roofvogelstand zich echter weer (van Rijn *et al.*, 1995).

Vanwege het hydrofobe (watervrezend) en lipofiele (vetminnend) karakter zullen organische microverontreinigingen na opname door organismen zich met name ophopen in vet (weefsel). Het gehalte van deze stoffen in organismen wordt om deze reden uitgedrukt op basis van vet (bijvoorbeeld in mg/kg vet). In het algemeen kan worden gesteld dat de mate van accumulatie van deze stoffen toeneemt bij een toename in $\log K_{ow}$ (= maat voor wateroplosbaarheid). De stoffen met de hoogste $\log K_{ow}$ zullen derhalve relatief de hoogste gehalten in organismen bereiken.

Zware metalen zijn in tegenstelling tot de organische microverontreinigingen wel goed in water oplosbaar¹³ en worden daardoor ook makkelijker verspreid in het lichaam. De gehalten in organismen worden daarom uitgedrukt op basis van droge stof (bijvoorbeeld in mg/kg droge stof).

Risicobeoordeling met behulp van de bioaccumulatietest met oligochaeten

De laboratorium-bioaccumulatietest met oligochaeten (zie bijlage 12) lijkt op dit moment het meest geschikt (zie 5.3.2) om de biologische beschikbaarheid van specifieke toxicanten in sediment te meten en vervolgens de doorvergiftigingsrisico's voor predatoren te kunnen inschatten op basis van het al of niet overschrijden van MTR-criteria hiervoor. Op dit moment zijn er echter nog maar voor een paar stoffen MTR's beschikbaar, waardoor de toepassingsmogelijkheid op dit vlak nog beperkt is. Verder kan het inzicht in de biologische beschikbaarheid ook worden gebruikt om de resultaten van de acute en chronisch bioassays en de resultaten van veldinventarisaties mede te verklaren (zie 7.1.1).

Volgens de huidige methode wordt gewerkt met oligochaeten die worden verkregen via de aquariumhandel. Hieraan kleven een aantal nadelen (zie bijlage 12: aandachtspunten). Deze zouden mogelijk opgelost kunnen worden door uit te gaan van in het laboratorium gekweekte organismen.

¹³ Dit geldt voor bepaalde vormen (species) van zware metalen. De speciatie en mobiliteit van metalen in bodem en water is zeer complex en wordt hier derhalve niet verder toegelicht. Voor meer informatie over dit onderwerp wordt verwezen naar van Straalen & Verkleij, 1991.

Het nadeel van het werken met gekweekte oligochaeten is echter dat de kweekkosten doortellen in de kosten van de bioaccumulatietest en de test daardoor (aanzienlijk) duurder wordt. Bovendien zal de mogelijkheid van het werken met gekweekte organismen eerst verder moeten worden onderzocht en gevalideerd.

6.4 Beoordeling van negatieve effecten in het veld

6.4.1 Beoordeling van ecologische kwaliteit

Inmiddels zijn er van een groot aantal locaties (met name uit Rijkswateren) gegevens beschikbaar over het voorkomen en de dichtheid van chironomidenlarven en oligochaeten (bemonsterd met behulp van een bodemhapper en/of steekbuis) en over de fysische en chemische kwaliteit van het betreffende sediment. Op basis hiervan konden (duidelijke) relaties worden vastgesteld tussen de algehele verontreinigingsgraad van het sediment en de abundantie van deze organismen (voor voorbeelden zie o.a. van de Guchte, 1991; van Urk & Kerkum, 1991; AquaSense, 1993a; Smit, 1995; den Besten *et al.*, 1995; de Poorter *et al.*, 1996). Dit soort studies vormen de basis voor het afleiden van de beoordelingscriteria voor de geselecteerde veldparameters (zie 5.3.3) voor verschillende bodemtypen (zie bijlage 9). Bij overschrijding van (een van) deze criteria wordt de aanwezigheid van toxische stress geïndiceerd. Hiermee wordt echter nog geen uitsluitsel gegeven over de specifieke toxicanten die hiervoor verantwoordelijk zijn.

Doordat steeds meer data beschikbaar komen is het mogelijk om met behulp van multivariate analysetechnieken steeds beter de mate van invloed van specifieke omgevingsfactoren en specifieke toxicanten af te bakenen. Smit (1995) toonde bijvoorbeeld met behulp van het statistische programma CANOCO aan dat in de Rijn-Maas delta 44% van de variantie in abundantie van macrofaunasoorten significant ($P < 0,05$) wordt verklaard door de parameters: pH (23%), watergehalte (20%), zandfractie (15%), totaal gehalte PAK's (12%) en stroomsnelheid (9%; niet significant). In deze studie bleek dus dat de abundantie van macrofauna het meest wordt beïnvloed door de fysisch/chemische sedimentkarakteristieken (pH, watergehalte en zandfractie), maar ook dat een significante invloed van toxische verontreinigingen kan worden aangetoond. Op basis van dergelijke studies kunnen de reeds bestaande beoordelingscriteria worden aangescherpt en voor karakteristieke situaties (habitats) en nieuwe parameters beoordelingscriteria worden geformuleerd.

6.4.2 Beoordeling van pathogene effecten

Bekend is dat een lage temperatuur, zuurstofspanning, hoeveelheid organisch stof en fractie lutum een rol spelen bij het ontstaan van misvormingen bij *Chironomus* (van Urk & Kerkum, 1991; Grootelaar, 1993). Een causale relatie tussen kunstmatig met een of meerdere toxicanten verontreinigd sediment en het ontstaan van kaakmisvormingen is in laboratoriumtesten echter (nog) niet aangetoond (van Urk & Kerkum, 1991). Door verschillende onderzoekers is in het veld, voor meerdere genera (*Chironomus*, *Micropsectra*, *Procladius*, *Protanypus*, *Stictochironomus* en *Tanytarsis*), wél een correlatie aangetoond met de algehele verontreinigingsgraad van sediment. Er zijn in Nederland positieve correlaties gevonden tussen het percentage misvormingen en het gehalte zware metalen in sediment (cadmium, koper en zink in de rivier de Dommel) en het gehalte in organismen (lood en koper). In de verontreinigde, Belgische rivieren de IJzer, Dommel en Jeker werd naast een significante correlatie ($P < 0,05$) tussen het percentage misvormingen en het gehalte kwik en cadmium in het sediment, ook een significante correlatie tussen het percentage misvormingen en het gehalte cadmium en zink in poriewater aangetroffen (de Cooman, 1995). Naast metalen zijn in het veld ook verhoogde percentages misvormingen geconstateerd in sedimenten die waren verontreinigd met organische microverontreinigingen zoals PAK's en DDT en in experimentele vijvers die waren verontreinigd met minerale olie. Blootstelling in het

laboratorium van gekweekte *C. riparius* larven aan verontreinigd sediment, resulteerde eveneens in kaakmisvormingen, maar wel in een lager percentage dan bij de larven die op de betreffende locatie in het veld werden verzameld (Grootelaar, 1993). Canadese onderzoekers slaagden er in om in een vergelijkbaar experiment met *C. salinarius* een dosis-effect-relatie aan te tonen: de fractie larven met misvormde kaken nam af bij een afname in de algehele verontreinigingsgraad (Hudson & Ciborowski, 1996). Dit laatste werd gerealiseerd door sterk verontreinigd sediment (PCB's, PAK's, zware metalen, OCB's) te mengen met schoon sediment.

In Nederland worden in schone gebieden normaalwaarden van 1 tot 8 a 10% kaakmisvormingen waargenomen. In niet door Rijn of Maas beïnvloede en relatief schone wateren overschrijdt het percentage misvormingen de 10% grens niet (van Urk & Kerkum, 1991). Dit geldt zowel voor slib- als voor veenbodems (AquaSense, 1993a). In zandige bodems komen te weinig *Chironomus* larven voor om een betrouwbaar beeld te kunnen krijgen van de normaalwaarden voor deze parameter (AquaSense, 1993a). De grens tussen relatief schone en matig tot ernstig verontreinigde bodems wordt hierbij gelegd op de grens van klasse 2 (gehalten beneden de toetsingswaarde) naar klasse 3 (gehalten vanaf de toetsingswaarde). De argumenten hiervoor zijn reeds besproken in paragraaf 4.2.1.

6.5 Aanvullende technieken en toekomstige ontwikkelingen

De huidige selectie van technieken lijkt voldoende basis te bieden om aannemelijk te maken dat er in gevallen van ernstige waterbodemonverontreiniging géén actueel ecologisch risico aanwezig is als met deze technieken géén negatieve effecten worden geconstateerd. Toch zijn er ook grenzen aan de mogelijkheden van de geselecteerde technieken om de beoordelingsvraag waarvoor ze worden toegepast te kunnen beantwoorden (zie voorgaande paragrafen), en bepaalde vragen kunnen niet worden beantwoord omdat de technieken daar niet op zijn gericht. Hierdoor blijft de wens bestaan voor betere (kosten-effectiever, gevoeliger etc.) en/of aanvullende technieken.

6.5.1 Technieken voor beoordeling mutagene en carcinogene effecten

In Nederland wordt nog niet of nauwelijks beoordeeld of blootstelling aan verontreinigde waterbodems kan leiden tot mutagene en carcinogene effecten¹⁴. Voor de beoordeling van waterige monsters (dus ook geschikt voor de beoordeling van poriewater) bestaan er inmiddels wel een aantal gestandaardiseerde technieken, waarvan de Ames-test de bekendste is. Deze techniek wordt, als vast onderdeel van het waterkwaliteitsmeetnet van de RIWA, routinematig gebruikt voor het monitoren van de mutageniteit van XAD-geconcentreerd (zie begrippenlijst) Rijn- en Maasoppervlaktewater (zie STOWA, 1997). Tot op heden is het niet mogelijk gebleken om aan te geven welke stoffen deze mutagene effecten veroorzaken in deze watermonsters. Verder is het niet zonder meer mogelijk om de resultaten van de Ames-test naar een hoger niveau (bijvoorbeeld de mens) door te vertalen. De testorganismen in de Ames-test (bacteriën) beschikken (in tegenstelling tot hogere organismen) namelijk niet over een reparatiemechanisme op chromosomaal niveau, en zijn daardoor juist uiterst gevoelig voor mutagene stoffen (Noij & Meerkerk (red.), 1995). Wanneer in de (nabije?) toekomst meer inzicht wordt verkregen in welke stoffen in milieumonsters verantwoordelijk zijn voor dit soort mutagene effecten, en wanneer een betere doorvertaling kan worden gemaakt in termen van risico's voor andere organismen, dan kan de routinematige inzet van mutageniteitstesten ook bij de beoordeling van waterbodems worden overwogen. De vraag is dan of dit de Ames-test moet zijn omdat er inmiddels diverse alternatieven bestaan. Voor de beoordeling

¹⁴De mutagene (of genotoxische) werking van stoffen berust op een chemische interactie met het genetische (erfelijke) materiaal (DNA in de chromosomen) in de celkern, waardoor onomkeerbare mutaties in het DNA ontstaan. Als gevolg van deze chromosoomschade kunnen carcinogene effecten (kanker) optreden, of de schade kan leiden tot aandoeningen bij het nageslacht (Gezondheidsraad, 1995).

van verontreinigde waterbodems werd bijvoorbeeld, na een uitgebreid literatuuronderzoek, uitgevoerd in opdracht van de Duitse Umweltbundesamt, de SOS-chromotest als meest kosten-effectieve mutageniteitstest aanbevolen (Zimmer, 1993). Ook hier werden echter vraagtekens gezet bij de ecologische relevantie van mutageniteitstesten met bacteriën.

6.5.2 Gevoeligere technieken

Concentrering of extractie van poriewater

In paragraaf 5.1 is reeds gesteld dat vanwege de beperktheid van de geselecteerde set van technieken, in lang niet alle gevallen de meest gevoelige techniek beschikbaar is voor beoordeling van de toxiciteit van de specifieke gevalsbepalende stoffen. Aan deze behoefte kan deels worden voldaan door de 'performance' van de geselecteerde bioassays verder te verhogen. Een mogelijkheid hiertoe is het toepassen van concentrerings- of extractietechnieken. Een voorzet voor dergelijke technieken wordt gedaan in het STOWA-rapport "Indicatieve analytische methoden en groeps- en somparameters voor de bepaling van de waterkwaliteit" (STOWA, 1996). Door AquaSense is bijvoorbeeld met behulp van de acute bacterie-, Thamnotoxkit- en Rotoxkit-test de toxiciteit van poriewater beoordeeld van een aantal verontreinigde waterbodems zowel vóór, als na 100-voudige concentrering met behulp van XAD-hars (AquaSense, 1994b). Tussen de monsters 'voor' en 'na' bleken duidelijke verschillen in (de mate van) toxiciteit waarneembaar. De monsters 'voor' bleken niet acuut toxisch te zijn voor de bacterie *Vibrio fischeri* maar alle monsters 'na' wel. Opvallend was verder dat een aantal monsters 'voor' wel toxisch bleken voor *Thamnocephalus platyurus* en *Brachionus calyciflorus*, maar 'na' niet meer. Hiermee wordt geïllustreerd dat de gevoeligheid van een techniek in bepaalde gevallen kan worden verhoogd. Ook wordt geïllustreerd dat een betere indicatie over de oorzaak van de eventueel waargenomen toxische effecten kan worden gekregen. Bij XAD-concentrering worden bijvoorbeeld de apolaire, organische verbindingen geconcentreerd. In het geval van de beide Toxkittesten is de toxiciteit in een aantal gevallen 'voor' concentrering dus waarschijnlijk veroorzaakt door polaire verbindingen omdat 'na' concentrering géén toxiciteit meer werd gemeten.

De technieken voor het concentreren van waterige monsters zijn echter nog volop in ontwikkeling. In het bovengenoemde STOWA-rapport en in STOWA (1997) wordt derhalve aanbevolen om met de routinematige toepassing te wachten tot het moment dat deze technieken voldoende zijn doorontwikkeld en gevalideerd (schatting: binnen nu en 5 jaar). Deze aanbeveling wordt ook overgenomen voor het concentreren van poriewater.

Biomarkertesten

Aan de behoefte aan gevoeligere technieken kan voor een deel ook worden voldaan door het toepassen van de eveneens nog volop in ontwikkeling zijnde 'biomarkertesten'. Biomarkers kunnen gedefinieerd worden als "de subletale biochemische, fysiologische of pathologische respons van individuele organismen na blootstelling aan milieuvreemde stoffen" (Benson & Di Giulio, 1992 in Zimmer, 1993). Het nadeel van biomarkertesten is dat geen effecten worden gemeten op populatieniveau of hoger. Wanneer echter voldoende is onderbouwd dat de mate van effect, die wordt gemeten met een biomarkertest, goed correleert met de mate van effect zoals bij een langere blootstellingsduur wordt gemeten met (chronische) bioassays, lijkt het in de toekomst (binnen nu en 5 jaar?) mogelijk dat in een aantal gevallen biomarkertesten de veel duurdere chronische testen kunnen vervangen (AquaSense, 1996c).

Doordat in biomarkertesten wordt gekeken naar de remming van zeer specifieke processen in een organisme (bijvoorbeeld remming van de bioluminescentie bij de acute bacterietest) is het mogelijk om veel sneller (binnen kortere blootstellingsduur), en vaak bij zeer lage concentraties een indicatie te krijgen van eventuele negatieve effecten. Biomarkertesten kunnen in de toekomst mogelijk ook worden toegepast om de kloof tussen ecotoxicologische en humane risicobeoordeling te overlopen (Zimmer, 1993).

6.5.3 *In situ*-technieken

Het toepassen van lab-bioassays heeft veel voordelen: ze zijn snel uitvoerbaar, eenvoudig, relatief goedkoop, eenvoudig standaardiseer- en reproduceerbaar en geschikt voor screening en het bepalen van effecten op individueel niveau. In het laboratorium worden alle omstandigheden nagenoeg constant gehouden en is meestal niet meer dan één organisme aanwezig (single-species test) waardoor in redelijke mate een relatie met toxische stoffen kan worden gelegd. Er zijn echter ook nadelen verbonden aan bioassays: ze maken (vaak) gebruik van soorten die niet op de locatie voorkomen, ze meten uitsluitend individuele effecten, de testomstandigheden wijken vaak af van de natuurlijke situatie, er wordt geen rekening gehouden met verspreidings- en afbraakprocessen en de invloed van interacties met andere soorten wordt niet meegenomen. De afstand tussen de laboratorium en de veldsituatie is daardoor groot.

Om de lab - veld afstand te verkleinen worden veld(*in situ*-)technieken ontwikkeld, die aan de ene kant model staan voor een ecosysteem, en derhalve enige mate van complexiteit vertonen, en aan de andere kant eenvoudig genoeg zijn te reproduceren en te manipuleren. Met behulp van deze *in situ*-technieken kunnen de risico's van verontreinigde waterbodems op een realistischere (actuelere) manier worden beoordeeld (Burton *et al.*, 1996). Er zijn meer realistische interacties mogelijk tussen de toxische stoffen, de fysisch-chemische omgeving en tussen organismen, en het gedrag van de organismen is meer natuurlijk. Experimenten in het veld zijn echter complex (lastig uitvoerbaar en moeilijk standaardiseerbaar) en een oorzaak-effect-relatie is vaak moeilijk aan te tonen doordat in een ecosysteem niet alleen door toxicanten maar ook door natuurlijke oorzaken variatie in het testresultaat optreedt. Dit is dan ook de reden waarom veldtechnieken nog nauwelijks worden toegepast voor de beoordeling van verontreinigde waterbodems.

Er zijn echter reeds diverse *in situ*-technieken beschikbaar die, na een eventuele aanpassing, mogelijk bruikbaar zijn voor de beoordeling van verontreinigde waterbodems. Te denken valt hierbij aan technieken gericht op het bepalen van de afbraakcapaciteit in de bodem (microbiële metabolische activiteit), proefsloten of -vijvers (zie bijv. Brock *et al.*, 1993) en modelecosystemen zoals enclosures, micro- en mesokosmosen (zie bijv. van Straalen & Verkleij, 1991). Het meest kansrijk voor toepassing op korte termijn zijn waarschijnlijk de veldbioassays. Een voorbeeld hiervan is het onderzoek van het RIZA naar de kwaliteit van verontreinigde sedimenten met behulp van een muggenlarve veldbioassay (Naber & Grootelaar, 1994). In deze veldbioassay worden in het laboratorium gekweekte *Chironomus riparius* larven (dezelfde muggenlarvesoort als in de chronische muggenlarventest, zie bijlage 11-II), in een met sediment van de betreffende locatie gevuld kooitje of korfje, *in situ* blootgesteld aan het sediment. Afhankelijk van de watertemperatuur is na 2,5 of 5 (najaar/zomer) tot 17 weken (winter) als eindpunt gekeken naar de parameters overleving, ontwikkeling en kaakmisvormingen. De eerste resultaten zijn bevredigend en derhalve is vervolgonderzoek aanbevolen om deze techniek verder te optimaliseren.

7. LEIDRAAD ECOTOXICOLOGISCHE RISICOBEOORDELING WATERBODEMS

7.1 Ecotoxicologische risicobeoordeling in het Nader onderzoek

7.1.1 Stapsgewijs keuzesysteem

In figuur 6 is in de vorm van een stroomschema het keuzesysteem weergegeven waarmee stapsgewijs het ecotoxicologische risico van ernstig verontreinigde waterbodems kan worden beoordeeld. Het keuzesysteem heeft vooralsnog een voorlopig karakter, aangezien nog geen toetsing en validatie in praktijk heeft plaatsgevonden. Stapsgewijs worden uitsluitend kansrijke, biologische beoordelingstechnieken toegepast. Voor iedere situatie wordt dezelfde volgorde van technieken aanbevolen:

1. Screeningstest(en) (acute lab-bioassays);
2. Chronische lab-bioassay(s);
3. Bioaccumulatietest met oligochaeten;
4. Dichtheid (en aantal soorten) chironomiden en oligochaeten;
5. Kaakmisvormingen bij *Chironomus*.

Deze volgorde is bepaald op basis van kosten-effectiviteit waarbij stap 1 het meest en stap 5 het minst kosten-effectief is. Deze **volgorde is bedoeld als leidraad en is dus niet dwingend**: de beoordelaar kan de volgorde van toepassing van deze technieken naar eigen behoeften en inzicht wijzigen. Op de pagina naast het stroomschema worden hiertoe nog enige aanvullende opmerkingen gemaakt.

Een voorbeeld van de toepassing van dit keuzesysteem (figuur 6) in een praktijksituatie wordt gegeven in hoofdstuk 8. Hierna wordt de aanbevolen volgorde van het keuzesysteem stapsgewijs toegelicht.

Start

Het stroomschema begint met de input van historische, fysisch/chemische informatie. Hiermee worden de analyseresultaten bedoeld van de toplaag (bij voorkeur 0 - ca. 15 cm, doch meestal 0 - 50 cm) van de betreffende locatie. Deze informatie is beschikbaar uit het eerste deel van het Nader onderzoek (zie 1.4). Hierin is immers op basis van de aard, omvang en gehalte van de verontreiniging vastgesteld dat op de betreffende locatie sprake is van een geval van ernstige waterbodemverontreiniging. Deze informatie is nodig om bij het doorlopen van het stroomschema enige vragen te kunnen beantwoorden.

Stap 0: Monsternamen en fysisch/chemische analyse

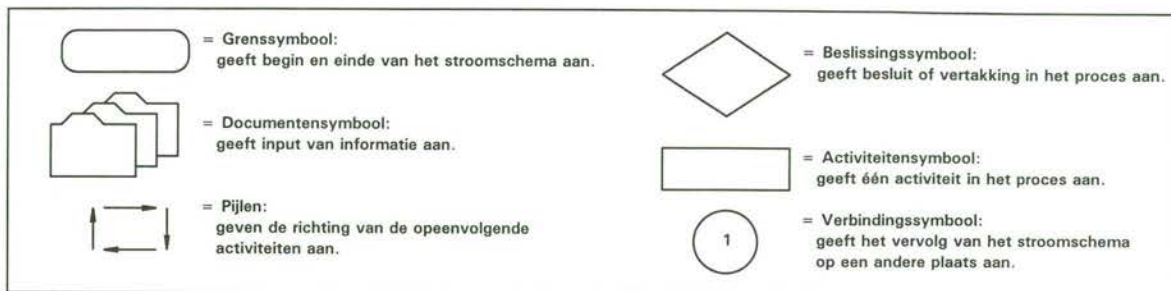
Deze stap dient altijd te worden uitgevoerd. De procedure voor monsternamen en -verwerking is beschreven in bijlage 7 en 8.

Om de onderzoeksresultaten te kunnen interpreteren is het wenselijk om simultaan ook een *lokale referentielocatie* te bemonsteren en vervolgens op dezelfde wijze te beoordelen als de monsters van de verontreinigde locaties (zie ook 2.1.2, 4.2.1 en 7.1.3).

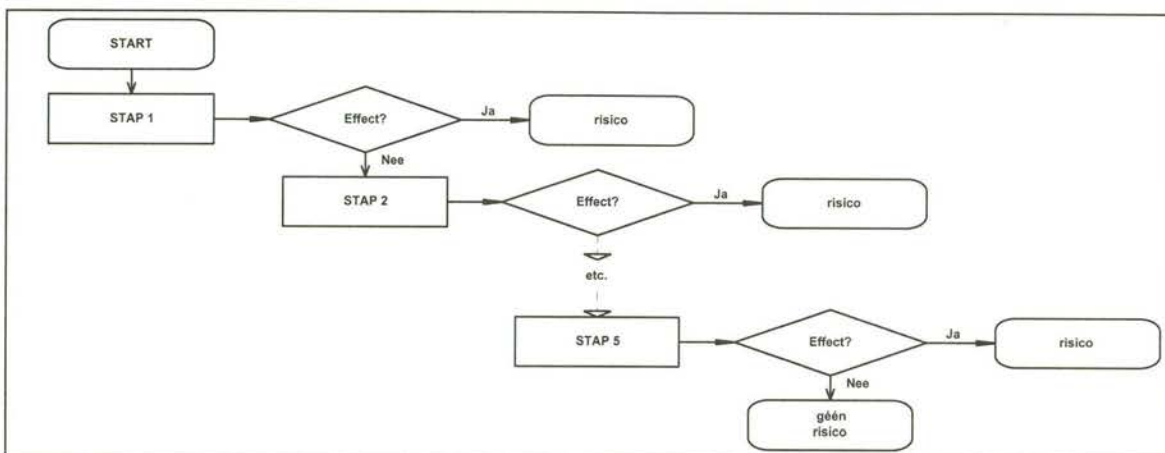
Toelichting bij stroomschema (figuur 6, rechterpagina)

Symbolen:

Voor de samenstelling van het schema is gebruik gemaakt van gestandaardiseerde stroomschemasymbolen, waarbij ieder symbool de volgende, vaste betekenis heeft:



Vereenvoudigde opbouw van het schema:



Gebruiksaanwijzing:

1. Begin met de eerste stap (bijv. uitvoering screeningtesten);
2. Is er een effect? (zie de onderdelen E van bijlage 10);
3. En is dit effect verklaarbaar? (zie 7.1.3);
4. Dan is er sprake van een actueel risico a.g.v. de betreffende stof(groep) en kan de beoordeling worden gestopt: de saneringsurgentie van de betreffende stof(groep) is daarmee ecotoxicologisch onderbouwd;
5. Indien er géén (verklaarbaar) effect is, vervolg dan met de volgende stap (bijv. chronische bioassays);
6. Ga hiermee net zolang door totdat een verklaarbaar effect is waargenomen;
7. Is na het doorlopen van alle vijf stappen nog géén verklaarbaar effect waargenomen, dan kan voor het betreffende geval worden

gesteld dat er ondanks de ernstige waterbodemonverontreiniging géén actueel risico aannemelijk is in de huidige situatie.

Hiermee is dus de route 'URGENT, TENZIJ' ingevuld: er is géén actueel, ecologisch risico en derhalve wordt aanbevolen om het 'chemische' oordeel URGENT om te buigen in NIET URGENT.

Andere dan aanbevolen volgorde van stappen:

Indien ervoor wordt gekozen om bijvoorbeeld als eerste stap te beginnen met het toepassen van veldinventarisatietechnieken, dan wordt echter wel aanbevolen om de eventuele negatieve effecten, die hiermee zijn waargenomen, te valideren. Dit kan worden gedaan door ook een (verklaarbaar) negatief effect waar te nemen met minimaal een van de overige technieken (acute of chronische bioassays of bioaccumulatietest). Deze aanbeveling wordt gedaan omdat de resultaten van veldtechnieken (nog) minder stofspectiefiek zijn dan de resultaten van bioassays (zie verder de toelichting in de hoofdttekst van paragraaf 7.1).

Na stap 0 wordt de vraag gesteld of de aanwezige stoffen in gehalten hoger dan verontreinigingsklasse 2 allen tot dezelfde stofgroep behoren, dat wil zeggen allen (globaal) hetzelfde werkingsmechanisme hebben. Op basis hiervan wordt besloten of slechts één stof(groep) problematisch is (niet complex) of meerdere stoffen met een verschillend werkingsmechanisme problematisch zijn (complex mengsel). De keuzecriteria hiervoor zijn reeds besproken in paragraaf 4.2.

In het geval dat sprake is van slechts één problematische stof(groep), en er dus geen sprake is van een complex mengsel, dan is de volgende vraag of het PCB('s) betreft. Indien dit het geval is, dan is het niet zinvol om het ecologische risico te beoordelen aan de hand van de geselecteerde bioassays omdat negatieve effecten, vanwege de relatief korte blootstellingsduur (ook bij chronische bioassays), waarschijnlijk niet kunnen worden gemeten met lab-bioassays. Effecten worden bij de in de bioassays gebruikte testorganismen mogelijk pas in het veld verwacht bij zeer lange blootstelling of via biomagnificatie (zie begrippenlijst) bij organismen hoger in de voedselketen (zie 6.2.4). Vandaar dat in dit geval stap 1 (screeningtesten) en stap 2 (chronische bioassays) worden overgeslagen en wordt vervolgd met stap 3 (bioaccumulatietest). Indien een andere stof(groep) dan PCB problematisch is, dan wordt aanbevolen om de beoordeling te beginnen met stap 1. Dit is ook het geval indien sprake is van een complex mengsel.

Stap 1: Screeningtest(en) (acute lab-bioassays)

Screeningtesten zijn goedkoop, makkelijk en snel uit te voeren, betrouwbaar en kunnen bovendien het gehele jaar door worden toegepast. Het is derhalve het meest kosten-effectief om de ecotoxicologische beoordeling te beginnen met deze testen.

Wanneer sprake is van een complex mengsel wordt aanbevolen om alle geselecteerde screeningtesten toe te passen (zie 4.2.3). Indien slechts één stof(groep) problematisch is, dan worden in stap 1 uitsluitend screeningtechnieken toegepast waarmee in theorie de mogelijkheid bestaat om toxische effecten te kunnen meten bij de gegeven gehalten van de betreffende stof(groep). Als géén van de screeningtesten kansrijk blijkt te zijn, dan wordt stap 1 overgeslagen en wordt de beoordeling vervolgd met stap 2. In de volgende paragraaf (7.1.2) wordt beschreven hoe kansrijke bioassays kunnen worden geselecteerd.

Tabel 7 Beoordeling actueel risico.

Gemeten effect	Verklaarbaar (zie 7.1.3)	Oordeel	Aanbevolen vervolgacties (zie 7.1.3)
ernstig	ja	Actueel risico aannemelijk a.g.v. gemeten stoffen	Géén, de beoordeling kan worden gestopt
ernstig	nee	Actueel risico aannemelijk a.g.v. <u>niet</u> gemeten stoffen/factoren	Verder onderzoek naar mogelijke oorzaken effect
matig	ja	Mogelijk actueel risico a.g.v. gemeten stoffen	Validatie: minimaal nog één andere techniek met verklaarbaar matig effect
matig	nee	Mogelijk actueel risico a.g.v. <u>niet</u> gemeten stoffen/factoren	Verder onderzoek naar mogelijke oorzaken effect
géén	n.v.t.	Nog geen oordeel mogelijk	Beoordeling vervolgen met andere, (kansrijke) techniek(en)

Wanneer met één of meerdere technieken een effect wordt gemeten, dan kan worden gezocht naar de (combinatie) van toxicanten die waarschijnlijk het meest verantwoordelijk zullen zijn voor dit effect (zie 7.1.3). Op basis van de hoogte van het gemeten effect (matig of ernstig) en de verklaarbaarheid hiervan, kan worden beoordeeld of een actueel risico aannemelijk is (tabel 7).

Indien een ernstig effect is vastgesteld, en aannemelijk is dat dit effect wordt veroorzaakt door de gemeten stoffen (verklaarbaar effect), dan kan de beoordeling worden gestopt omdat het bestaan van een actueel risico daarmee aannemelijk is gemaakt. Indien het effect niet kan worden gerelateerd aan de gemeten verontreinigingen, dan wordt aanbevolen om verder onderzoek te doen naar de mogelijk oorzaak (zie 7.1.3). Indien géén effecten worden gemeten of slechts met één techniek een matig effect, dan wordt de beoordeling vervolgd. Wordt met minimaal nog een andere screeningstechniek een (verklaarbaar) matig effect gemeten, dan is het effect gevalideerd en daarmee het bestaan van een actueel risico aannemelijk gemaakt.

Stap 2: Chronische lab-bioassay(s)

Het is logisch en het meest kosten-effectief om na de kortdurende screeningstesten te vervolgen met de gevoeligere chronische lab-bioassays omdat de monstervoorbehandeling reeds heeft plaatsgevonden (stap 0 en 1) en omdat chronische bioassays net als screeningstesten gestandaardiseerd en makkelijk zijn uit te voeren en de resultaten betrouwbaar zijn. Bovendien zijn de (commerciële) uitvoeringskosten lager dan voor stap 3 (bioaccumulatietest).

In geval van een complex mengsel wordt net als in stap 1 de complete testbatterij chronische bioassays toegepast. Indien slechts één stof(groep) problematisch is, dan worden net als in stap 1 uitsluitend chronische bioassays toegepast waarmee in theorie de mogelijkheid bestaat om effecten te kunnen meten bij de gegeven gehalten van de betreffende stof(groep). Als géén van de bioassays kansrijk blijkt te zijn, dan wordt stap 2 overgeslagen en wordt de beoordeling vervolgd met stap 3.

De resultaten worden wederom beoordeeld op de wijze zoals aangegeven in tabel 7. Een actueel risico is aannemelijk indien een verklaarbaar, ernstig effect is vastgesteld. Wordt in deze stap net als in stap 1 een verklaarbaar matig effect vastgesteld, dan is ook daarmee het bestaan van een actueel risico aannemelijk gemaakt. Indien in stap 1 niet, en in 2 wel een matig effect is vastgesteld, dan vervolgt de beoordeling met stap 3.

Stap 3: Bioaccumulatietest met oligochaeten

De uitvoeringskosten voor bioaccumulatietest met oligochaeten zijn weliswaar hoger dan voor de uitvoering van de veldinventarisatietechnieken (stap 4 en 5), maar toch is het kosten-effectiever om eerst de bioaccumulatietest toe te passen omdat:

- De bioaccumulatietest stofspecifieke resultaten levert;
- Er, net als voor de bioassays, géén restricties zijn verbonden aan de periode van uitvoering van bioaccumulatietesten. Dit in tegenstelling tot de veldinventarisatietechnieken die in verband met het uitvliegen van muggen niet kunnen worden uitgevoerd in de periode van begin april tot eind oktober (Maas *et al.*, 1993);

Wanneer in beoordelingsstap 3 voor géén enkele stof een risico voor doorvergiftiging wordt aangetoond, dan wordt de beoordeling vervolgd met stap 4. Indien er wél voor een of meerdere stoffen een doorvergiftigingsrisico wordt aangetoond, dan is daarmee voor organismen hoger in de voedselketen een actueel risico aannemelijk gemaakt en kan de beoordeling worden gestopt. Het toepassen van bioaccumulatietesten is zinvol indien:

- Voor de betreffende verontreiniging MTR-criteria voor doorvergiftigingsrisico's beschikbaar zijn, zoals op dit moment voor: cadmium, kwik, PCB-153, hexachloorbenzeen, heptachloor, DDT en -derivaten, HCH, dieldrin en endrin (den Besten, 1996);
OF:
- Onverklaarbare effecten in stap 1 en/of 2 zijn gemeten.

De resultaten van de bioaccumulatietest leveren namelijk ook informatie over de biologische beschikbaarheid van specifieke toxicanten. Indien de resultaten bijvoorbeeld aantonen dat de biologische beschikbaarheid van bepaalde toxicanten veel hoger is dan verwacht op basis van de evenwichtspartitietheorie, dan kan dit mogelijk alsnog de waargenomen effecten in stap 1 en/of 2 verklaren. Indien in stap 2 is besloten dat géén van de chronische bioassays kansrijk was, dan wordt aanbevolen om alsnog chronische bioassays toe te passen. Het risico van deze verhoogde biologische beschikbaarheid wordt echter genuanceerd indien in stap 1 en 2 géén toxische effecten werden gemeten.

De biologische beschikbaarheid van verontreinigingen en het doorvergiftigingsrisico kan ook worden beoordeeld met passieve biomonitoringstechnieken (zie begrippenlijst) door de gehalten aan verontreinigingen te meten in in het veld verzamelde (bij voorkeur) bentische organismen. Deze methode heeft echter een aantal nadelen (zie bijlage 12: aandachtspunten) waardoor de uitvoering van bioaccumulatietesten met oligochaeten in het laboratorium de voorkeur heeft. Indien er voldoende budget beschikbaar is, kan worden overwogen om beide uit te voeren.

Stap 4 en 5: Dichtheid (en aantal soorten) chironomiden en oligochaeten en kaakmisvormingen bij Chironomus

Veldinventarisatie levert in (nog) mindere mate dan bioassays stofspecifieke informatie. Relaties zijn daardoor alleen aannemelijk te maken tussen effecten en het algehele verontreinigingsgraad (zie 6.4). Vandaar dat wordt aanbevolen om veldinventarisatie als laatste stap(pen) toe te passen, indien in géén van de voorgaande drie stappen een actueel risico aannemelijk kon worden gemaakt.

Het is het meest kosten-effectief om als stap 4 eerst de dichtheid en het aantal soorten oligochaeten en muggenlarven te bepalen omdat het voor stap 5 immers nodig is om eerst de in het veld verzamelde macrofauna uit te zoeken om zo de *Chironomus*-larven te kunnen scheiden van de overige macrofauna.

Indien effecten worden waargenomen wordt getracht om deze in relatie te brengen met de algehele verontreinigingsgraad (zie 7.1.3). De resultaten worden daarna beoordeeld op de wijze zoals aangegeven in tabel 7. Indien de dichtheid en het aantal soorten oligochaeten en muggenlarven en het percentage kaakmisvormingen niet afwijkend is van de referentielocatie, of, indien deze niet beschikbaar is, niet ernstig afwijkend is van de normaal voorkomende waarden¹⁵, dan kan voor het betreffende geval worden gesteld dat er ondanks de ernstige waterbodemonverontreiniging géén actueel risico aannemelijk is in de huidige situatie.

7.1.2 Selectie van kansrijke bioassays

In geval sprake is van een complex mengsel, dan hoeft de hierna beschreven procedure niet te worden doorlopen en wordt aanbevolen om alle bioassays uit de testbatterij toe te passen (zie 4.2.3).

In situaties waar sprake is van slechts één problematische stof, of van één stofgroep met een vergelijkbaar werkingsmechanisme, wordt in stap 1 en 2 respectievelijk gevraagd welke screeningtesten en chronische bioassays kansrijk zijn. Deze vraag kan worden beantwoord door voor de betreffende stof(fen) het gemeten gehalte om te rekenen naar het gehalte in poriewater, en dit gehalte in poriewater vervolgens te vergelijken met de L(E)C₅₀- en/of LOEC_{reproductie}-waarden (*D. magna* chronisch) voor iedere lab-bioassay. De werkwijze is als volgt:

¹⁵ Voor de beoordeling van de resultaten van stap 4 en 5 zijn nog geen specifieke criteria voor regionale waterbodems beschikbaar. Indicatief kan echter gebruik worden gemaakt van de voor rijkswateren beschikbare criteria (zie bijlage 13).

1. Gebruik uit het eerste deel van het Nader onderzoek (zie 1.4) de reeds beschikbare (historische) chemische analyseresultaten van de toplaag (bij voorkeur 0 - ca. 15 cm, doch meestal 0 - 50 cm) van de betreffende locatie;
2. Bereken voor de betreffende stof(fen) de poriewaterconcentratie met behulp van formule (1) in geval van metalen en met behulp van formule (3) in geval van organische microverontreinigingen (zie paragraaf 6.2.1.). De daarbij benodigde K_p - (metalen) en K_{oc} -waarden (organische microverontreinigingen) zijn weergegeven in bijlage 16;
3. Bereken de trefkanseenheden (TE's) met behulp van formule (4) uit paragraaf 6.2.1. De daarbij benodigde $L(E)C_{50}$ - en/of $LOEC_{reproductie}$ -waarden zijn weergegeven in bijlage 15;
4. Sommeer de TE-waarden in het geval dat sprake is van meerdere stoffen met een vergelijkbaar werkingsmechanisme (zelfde stofgroep);
5. Indien de (gesommeerde) TE-waarde $\geq 0,1$ dan wordt gesteld (zie 6.2.1) dat er in theorie een kans bestaat om met de betreffende techniek(en) een toxisch effect aan te tonen als gevolg van blootstelling aan de betreffende stof(groep). In dit geval wordt aanbevolen om deze kansrijke techniek(en) toe te passen

Een voorbeeld van de toepassing van deze berekeningswijze in een praktijksituatie wordt gegeven in hoofdstuk 8.

N.B.: om de TE-berekening te vereenvoudigen is bij dit rapport een diskette bijgevoegd met daarop een Excel-spreadsheet waarin alle formules en benodigde data zijn opgenomen. In bijlage 19 is de bijbehorende handleiding opgenomen.

7.1.3 Verklaarbaarheid waargenomen effecten

Bioassays

Nadat een effect is geconstateerd met een van de bioassays, dan moet worden uitgemaakt (figuur 6) of het aannemelijk is dat dit effect wordt veroorzaakt door de gemeten, problematische stoffen. De procedure hiervoor is vergelijkbaar met de procedure voor het selecteren van kansrijke bioassays (zie 7.1.2). Het verschil is echter dat nu niet meer gebruik wordt gemaakt van historische chemische analyseresultaten, maar van de analyseresultaten van dezelfde monsters waarmee de bioassays zijn uitgevoerd (stap 0: zie bijlage 7 en 8). Indien de ΣTE -waarde $\geq 0,1$ dan wordt gesteld dat aannemelijk is dat het effect (mede) het gevolg is van blootstelling aan de betreffende stof(groep). Hierbij wordt er wel vanuit gegaan dat in de betreffende bioassays is voldaan aan de randvoorwaarden voor enige fysisch/chemische parameters (zie bijlage 8-V), en aan de geldigheidscriteria (zie bijlage 10 en 11).

In geval van een complex mengsel worden de ΣTE -waarden voor alle problematische toxicanten berekend. Hierbij kan worden gesteld dat iedere stof of stofgroep in theorie een bijdrage aan het gemeten effect zal hebben indien de $\Sigma TE \geq 0,1$. Indien het lukt om voor minimaal één stof of stofgroep een dergelijke TE te berekenen, en indien met de betreffende techniek daadwerkelijk een effect is gemeten, dan is een relatie tussen oorzaak en effect aannemelijk en het verklaarbaar effect (althans voor een deel: zie hierna bij 'referentielocatie').

Indien wel negatieve effecten worden gemeten, en géén van de randvoorwaardenparameters wordt overschreden en voor géén van de gemeten stofgroepen een $\Sigma TE \geq 0,1$ kan worden vastgesteld, dan is het waarschijnlijk dat deze effecten worden veroorzaakt door (een combinatie van) andere, niet geanalyseerde verontreinigingen of niet gemeten modificerende factoren (bijvoorbeeld H_2S). Ook is het in dit geval mogelijk dat bepaalde verontreinigende stoffen veel hoger biologisch beschikbaar zijn dan verwacht. De resultaten van de bioaccumulatietesten kunnen hier meer inzicht ingeven. Indien meer inzicht is gewenst in de oorzaak-gevolg-relatie is derhalve in alle gevallen verder onderzoek noodzakelijk.

Lokale referentielocatie

Bij de beoordeling van de verklaarbaarheid dient ook gekeken te worden naar de resultaten voor de simultaan beoordeelde lokale referentielocatie. De aanwijzing dat het in hoofdzaak deze verontreinigingen zijn die verantwoordelijk zijn voor waargenomen negatieve effecten, wordt namelijk in belangrijke mate versterkt indien op de referentielocatie géén, of duidelijk (significant) minder negatieve effecten worden gemeten. De mate van verontreiniging op de referentielocatie is bij voorkeur klasse 0 of 1 (zie 2.1). Aangezien het in praktijk vaak niet goed mogelijk is om dergelijke locaties te vinden in Nederlandse wateren, kunnen ook klasse 2 locaties als referentie worden aangehouden (zie paragraaf 4.2.1).

Toch kan ook in gevallen waar een geschikte, lokale 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 gevalsbepalende verontreinigingen. Alle geselecteerde biologische beoordelingstechnieken, met uitzondering van de bioaccumulatietest met oligochaeten, zijn namelijk niet of nauwelijks stofspecifiek. De met deze technieken gemeten effecten zijn altijd het gevolg van de gecombineerde blootstelling aan alle in de waterbodem aanwezige verontreinigende stoffen (dus ook de niet gevalsbepalende en de niet geanalyseerde en/of onbekende stoffen). Verder spelen de interacties van deze stoffen met elkaar, de interacties tussen stoffen en bodemkarakteristieken (korrelgrootteverdeling, pH, organische stof) 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 met de geselecteerde technieken alle factoren die hierbij een rol spelen te identificeren en de invloed ervan te kwantificeren. Vandaar dat in dit rapport niet wordt gesproken van 'aantonen' maar van 'aannemelijk maken' van actuele risico's als gevolg van de gevalsbepalende stoffen.

Het is ook mogelijk dat op de referentielocatie ernstige effecten worden gemeten. Dit is een aanwijzing dat er nog andere (niet geanalyseerde) stoffen of modifierende factoren aanwezig zijn die een negatieve invloed uitoefenen. Indien het effect op de referentielocatie beduidend lager is dan op de verontreinigde locatie, dan is dit wel een indicatie voor een relatie met de gemeten verontreinigende stoffen. In dit geval is het dus nog steeds mogelijk om een uitspraak te doen over het actuele risico van deze stoffen.

Zelfs wanneer het effect op de verontreinigde locaties op een aannemelijke wijze worden verklaard, dient te worden gerealiseerd dat deze effecten voor een niet kwantificeerbaar deel worden veroorzaakt door onbekende factoren. Verder onderzoek naar de oorzaak van de effecten op de referentielocatie wordt in dit geval dan ook aanbevolen. Mogelijk komt hiervoor de 'Interstitial Water Toxicity Identification Evaluation (TIE)'-benadering in aanmerking omdat deze benadering er juist op is gericht om oorzaak-gevolg-relaties eenduidig vast te stellen (zie 2.2). Bij de beoordeling van zoute waterbodems is hiermee door het Rijksinstituut voor Kust en Zee in samenwerking met AquaSense reeds positieve ervaring opgedaan (Schot *et al.*, 1997).

Veldinventarisatie

Het bestaan van een aannemelijke relatie tussen de aanwezige verontreinigingen en de mate van effect bij veldinventarisatietechnieken wordt op een iets andere manier beoordeeld. Gesteld wordt dat er sprake is van een relatie met de algehele verontreinigingsgraad indien:

- Voor minimaal één van de veldparameters kan worden aangetoond dat deze op de verontreinigde locatie significant 'slechter' is dan referentie (zie bijlage 13);
OF, indien géén geschikte referentielocatie beschikbaar is (en in geval van de beoordeling van kaakmisvormingen):

- Op basis van een vergelijking met de indicatieve normaalwaarden, en de daarvan afgeleide beoordelingscriteria, voor minimaal één van de veldparameters een ernstig effect kan worden aangetoond (zie bijlage 13).

Met de huidige kennis van zaken is het nog niet mogelijk om meer eenduidige relaties tussen specifieke verontreinigingen en veldeffecten te leggen.

7.2 Toepassing screeningtesten in het Oriënterend onderzoek

In het Oriënterend onderzoek wordt vrijwel nooit gebruik gemaakt van ecotoxicologisch onderzoek. Indien slechts één concentratie poriewater wordt getest kan tegen relatief geringe meerkosten zinvolle additionele informatie worden verkregen door het toepassen van screeningtesten. In dit geval wordt aanbevolen om de complete testbatterij (tabel 4) toe te passen, omdat het inzicht in de aard en omvang van de verontreinigingen nog niet in voldoende mate aanwezig is. Verder wordt aanbevolen om dan alleen die concentratie poriewater te testen waaraan het criterium voor 'ernstig effect' is verbonden (zie 5.5 en bijlage 14). De beslissing om op een bepaalde locatie een Nader onderzoek uit te gaan voeren kan dan mede worden genomen op basis van de resultaten van deze testen. Locaties waar met een of meerdere testen een ernstig negatief effect is waargenomen zouden dan eerder in aanmerking komen voor Nader onderzoek dan locaties waar geen ernstige effecten zijn waargenomen. Ook het aantal testen met een ernstig effect kan bij deze keuze worden betrokken: wanneer met alle vier de screeningtesten een effect wordt aangetoond, lijkt het logisch om het eerst op deze locatie te starten met Nader onderzoek.

Ook kan de mate van verklaarbaarheid van de waargenomen effecten additionele informatie leveren. Indien het effect namelijk niet verklaarbaar is op basis van de resultaten van de (aan hetzelfde monster uitgevoerde) beperkte chemische analyse, dan kan in het Nader onderzoek worden overwogen om een uitgebreider pakket parameters chemisch te analyseren. Voor specifieke stoffen die niet zijn opgenomen in bijlage 15, zal het dan wel nodig zijn om in de literatuur aanvullend te zoeken naar toxiciteitgegevens.

7.3 Toepassing ecotoxicologische informatie uit het Nader onderzoek bij de prioritering

Net als in het Oriënterend onderzoek is de informatie verkregen uit ecotoxicologisch onderzoek additioneel en dus zinvol om te gebruiken bij het prioriteren van locaties die urgent gesaneerd moeten worden. Door in het Nader onderzoek de beoordeling strikt uit te voeren volgens het gepresenteerde keuzesysteem is de kans aanwezig dat al na stap 1 (screeningtesten) voldoende informatie is verzameld om voor bepaalde stoffen de kunnen stellen dat sprake is van een actueel risico en dat de beoordeling dus daar wordt gestopt. Bij het afwegen van de saneringsprioriteit kan dan rekening worden gehouden met de volgende zaken:

- verklaarbaarheid van de effecten (positieve relatie 'hoogte trefkanseenheid' - 'prioriteit');
- hoogte van deze effecten (positieve relatie 'hoogte' - 'prioriteit': een ernstig effect bij de algentest gebaseerd op bijvoorbeeld een LC_{50} van 5 volume % poriewater resulteert in een hogere prioriteit dan een ernstig effect gebaseerd op een LC_{50} van 30 volume %.);
- aantal technieken met effect (positieve relatie 'aantal' - 'prioriteit').

Indien echter ecotoxicologische informatie uit aanvullende stappen beschikbaar is, kunnen de keuzes beter worden gemaakt omdat dan naast de genoemde zaken ook nog rekening kan worden gehouden met de eenduidigheid van de resultaten uit verschillende stappen (positieve relatie 'aantal stappen zelfde uitkomst' - 'prioriteit'). Bovendien kan de toepassing van extra technieken actuele risico's voor nog andere stoffen aannemelijk maken. Wanneer voldoende budget beschikbaar is, kan het dus zinvol zijn om, nadat reeds in een vroege stap een actueel risico aannemelijk is gemaakt, de beoordeling te vervolgen met extra stappen of zelfs met alle stappen.

Aangezien in alle gevallen een actueel eco(toxico)logisch risico pas aanwezig is indien ook een aannemelijke oorzaak voor het effect bestaat, kan bij de prioritering rekening worden gehouden met de betreffende stof. Het is bijvoorbeeld mogelijk dat voor stoffen die aanwezig zijn in klasse 3 gehalten, of zelfs lager, een actueel risico aannemelijk wordt gemaakt. Bij de huidige, chemisch gerichte beoordeling zou dergelijke informatie minder snel of voor stoffen lager dan klasse 3 helemaal niet beschikbaar zijn. Deze informatie is niet alleen bruikbaar bij het prioriteren, maar ook bij het saneringsonderzoek.

8 PRAKTIJKVOORBEELD: SASSENHEIMERVAART

8.1 Inleiding

Na voltooiing van het stapsgewijs keuzesysteem rest de vraag hoe in praktijk met het systeem omgegaan kan worden en in hoeverre het systeem daar voldoet. In dit hoofdstuk wordt aan de hand van een praktijkvoorbeeld een voorzet gegeven ter beantwoording van beide vragen. Hiervoor is de locatie Sassenheimervaart gekozen. Deze locatie is gelegen in het beheersgebied van Hoogheemraadschap (HH) van Rijnland. Als proefproject is hier is reeds in 1992 een Nader onderzoek uitgevoerd (zie 3.2 en bijlage 5 en 6). In overleg met HH van Rijnland is besloten om het ecotoxicologisch deel van het Nader onderzoek nogmaals uit te voeren (AquaSense, *in prep.*) omdat:

- de inzichten in het uitvoeren van ecotoxicologisch onderzoek inmiddels zijn geëvolueerd en het onderzoek in de Sassenheimervaart nog steeds wordt beschouwd als een leerproject. Middels het opnieuw uitvoeren van dit onderzoek wordt getracht om volgens de huidige inzichten te beoordelen of een actueel ecologisch risico van de aanwezige verontreinigende stoffen aannemelijk is;
- voor het kunnen monitoren van het saneringseffect een maximum aan informatie wordt verlangd over de kwaliteit van de waterbodem vlak voor de sanering (uitgangssituatie). Daarom is besloten om gebruik te maken van alle geselecteerde beoordelingstechnieken (tabel 4) en dus niet te stoppen nadat bijvoorbeeld al met de eerste stap(pen) een actueel ecologisch risico aannemelijk is gemaakt.

Bij de uitvoering van dit praktijkonderzoek is de in dit rapport beschreven methodiek gehanteerd.

8.2 Locatie- en probleemomschrijving

De 'Sassenheimervaart' ligt in het beheersgebied van HH van Rijnland, strekt zich uit van de Kagerplassen (Dieperpoel) tot aan de duiker onder de N208, en beslaat een lengte van 2,1 km (figuur 7). Over de gehele lengte is de waterbodem matig (klasse 3) tot ernstig (klasse 4) verontreinigd met een cocktail aan verontreinigingen. De meest bepalende verontreinigingen zijn PCB's, DDT, PAK, metalen en olie. De belangrijkste bronnen van deze verontreiniging (direct en indirect geloozd op de vaart) zijn twee, inmiddels buiten bedrijf zijnde, vatenspoelerijen. De bovenste laag van de bodem bestaat uit een 50 tot 60 cm dikke veenlaag. Er vindt overwegend aanvoer plaats van water en klasse 2/3, met PCB's verontreinigd, weinig materiaal vanuit de Kagerplassen richting Sassenheimervaart. Soms is er ook transport andersom (Grontmij, 1993).

In 1992 zijn met een onderlinge afstand van telkens 150 meter bodemonsters genomen en uitgebreid fysisch/chemisch onderzocht. De venige toplaag (0 - 50 cm) van een beperkt aantal van deze locaties is eveneens beoordeeld met de chronische bioassays met watervlooien (*D. magna*) en muggenlarven (*C. riparius*). Verder zijn géén van de andere ecotoxicologische beoordelingstechnieken uit tabel 4 toegepast. De beoordelingsvraag over 'biobeschikbaarheid en doorvergiftigingsrisico's van specifieke stoffen' is echter wel getracht te beantwoorden door middel van het vangen en daarna chemisch analyseren van 25 palingen. Deze beoordeling was echter in de eerste plaats gericht op het kunnen inschatten van de actuele humane risico's (Grontmij, 1993).

De resultaten van de uitgevoerde bioassays en chemische analyses zijn samengevat weergegeven in tabel 8. Hieruit blijkt dat bij de watervlo matig negatieve effecten zijn vastgesteld na blootstelling aan poriewater van de twee klasse 4 locaties. Bij de muggenlarve zijn ernstig negatieve effecten vastgesteld na blootstelling aan één van deze locaties en aan de locatie 'Kaag'. De resultaten van de chemische analyses van de palingen toonden aan dat er voor diverse PCB's, DDE en DDD een doorvergiftigingsrisico bestaat voor zoogdieren en vogels die deze paling consumeren. De PAK's zijn niet gemeten in de palingen (Grontmij, 1993).

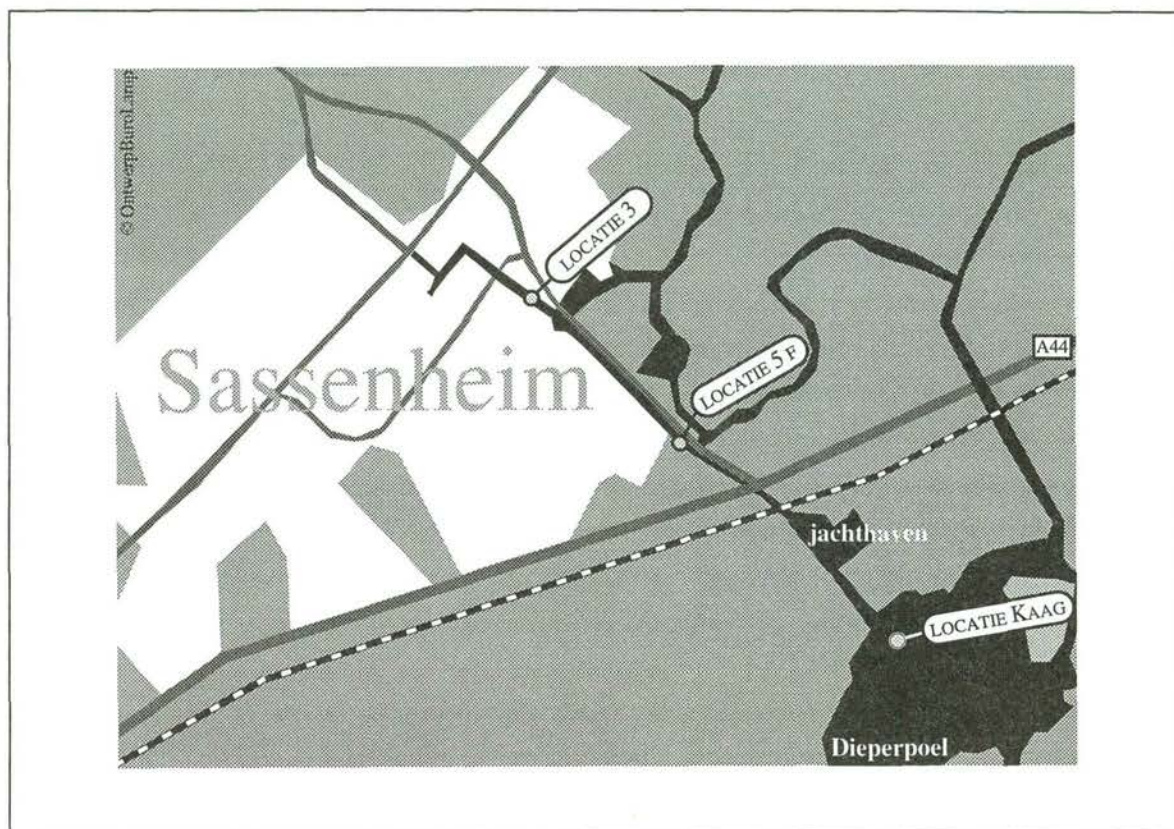


Fig. 7 Onderzoeklocatie (1 cm = ca. 250 m, ↑ N).

Tabel 8 Resultaten chronische bioassays en chemische analyses (Grontmij, 1993) (Sava = Sassenheimervaart, Triade-oordeel: '-' = geen effect, '+/-' = matig effect, '+' = ernstig effect).

Locatie	Bodem-type	Klasse (toplaag)	Probleemstoffen	Triade-oordeel	
				<i>D. magna</i>	<i>C. riparius</i>
Sava 3	veen	4	DDT, PCB's, olie, PAK's (metaal klasse 3)	+/-	+
Sava 7	veen	4	PCB's (lood en OCB's klasse 3)	+/-	-
Kaag	veen	3	DDT, PAK's (metaal klasse 2)	-	+

Op basis van deze resultaten is geconcludeerd dat er een actueel ecologisch risico bestaat en dat de sanering dus mede op grond hiervan als urgent kan worden beschouwd (mede, omdat ook actuele humane en actuele verspreidingsrisico's zijn aangetoond). Hierbij is echter opgemerkt dat een volledig inzicht in de oorzaak-gevolg-relaties ontbreekt (Grontmij, 1993).

8.3 Toepassing keuzesysteem

Hierna wordt het onderzoek in de Sassenheimervaart volgens de systematiek van het hier ontwikkelde keuzesysteem besproken (zie 7.1.1 figuur 6, en de uitklapversie achter in het rapport).

8.3.1 Stap 0: bemonstering en fysisch/chemische analyse

De verontreiniging en het bodemtype in de Sassenheimervaart is relatief homogeen. Daarom is in overleg met HH van Rijnland besloten om slechts twee locaties (3 en 5f) in de Sassenheimervaart te bemonsteren, en één referentielocatie in de Dieperpoel (Kagerplassen, locatie verder aangeduid als ‘Kaag’). Locatie 3 is gekozen omdat dit een van de meest verontreinigde locaties is en omdat hier ook in het genoemde Nader onderzoek reeds bioassays zijn toegepast. Locatie 5f is gekozen omdat deze halverwege locatie 3 en de Kaag ligt (zie figuur 7). De locatie Kaag wordt beschouwd als referentielocatie omdat na sanering wordt verwacht dat vanuit de Kagerplas weinig materiaal wordt aangevoerd naar de Sassenheimervaart en daar sedimenteert. De waterbodemkwaliteit van deze plas is daarmee voor een belangrijk deel bepalend voor de ecologische kwaliteit na sanering.

Op 2 april 1997 zijn, conform bijlage 7, monsters genomen van de bovenste 10 cm van de waterbodem van locatie 3, 5f en Kaag. Hierbij is een Ekman-Birge-happer gebruikt, waarbij iedere hap overeenkomt met een bemonsterd oppervlak van 0,0225 m². Bij de bemonstering is ernaar gestreefd om per locatie zoveel mogelijk vergelijkbaar bodemmateriaal te bemonsteren. Alle monsters zijn na het bemonsteren direct getransporteerd naar het laboratorium van AquaSense in Amsterdam. Hier zijn aansluitend de handelingen uitgevoerd zoals beschreven in bijlage 8-I.

Op basis van de fysisch/chemische analyseresultaten is de verontreinigingsgraad bepaald met behulp van LAWABO 3.0 (bijlage 8-II) en is de waterbodem volgens het schema in bijlage 9 gekarakteriseerd als ‘veen’ (tabel 9). De bodems op deze drie locaties zijn, naast organische stofgehalte, ook wat betreft de overige karakteriserende parameters (droge stof, vocht, calciet pH, fosfaat, stikstof, nitriet, nitraat, minerale delen < 2, < 16, < 63 µm) redelijk tot zeer goed met elkaar vergelijkbaar (resultaten niet verder weergegeven in dit rapport). Locatie 3 bevat alleen duidelijk meer grof zand (27% > 210 µm) dan locatie Kaag (2 % > 210 µm). Desondanks kan toch worden gesteld dat locatie Kaag, mede vanwege de relatief lage verontreinigingsgraad (klasse 2), als geschikte referentielocatie kan worden aangemerkt.

Tabel 9 Samengevatte resultaten fysisch/chemische analyse (stap 0).

		Locatie		
Techniek	Parameter:	3	5 f	Kaag (referentielocatie)
chemie	bodemtype:	veen (21% organische stof)	veen (26 % organische stof)	veen (24% organische stof)
	verontreinigingsgraad:	klasse 4	klasse 3	klasse 2
	op basis van:	Zn (en diverse stoffen klasse 3)	DDT	diverse stoffen

Vanwege de overzichtelijkheid worden alleen de resultaten van de meest verontreinigde locatie (3) en van de referentielocatie (Kaag) verder besproken in dit praktijkvoorbeeld.

8.3.2 Stap 1: acute bioassays

De eerste vraag in het keuzesysteem (figuur 6) is of de betreffende locatie is verontreinigd met een complex mengsel van stoffen. Op basis van de resultaten van het reeds uitgevoerde Nader onderzoek moet deze vraag met ‘ja’ worden beantwoord (zie 8.2). In dit geval wordt aanbevolen om de complete testbatterij met acute bioassays (screeningtesten) toe te passen. Deze technieken

zijn uitgevoerd op de wijze zoals beschreven in bijlage 10. Als kreeftachtige is uitsluitend gebruik gemaakt van *Thamnocephalus platyurus* en verder is in alle screeningtesten een volledige verdunningsreeks¹⁶ van poriewater beoordeeld. Dit poriewater is gewonnen, en hierin zijn de randvoorwaarden parameters gemeten op de wijze zoals beschreven in bijlage 8-IV en -V.

Bij uitvoering van de algentest met behulp van de Algaltokit (bijlage 10-I) bleek de bepaling van het aantal algencellen op basis van de voorgeschreven spectrofotometrische analyse onbetrouwbaar vanwege de vorming van zwevende partikeltjes in het poriewater gedurende de test. Om toch over bruikbare testresultaten te kunnen beschikken is aan het einde van de test (72 uur) het aantal algencellen bepaald met behulp van een Optical Plankton Analyser. Hierdoor kon de EC₅₀ echter alleen op basis van de groeisnelheid 'μ' worden geschat en niet ook, zoals voorgeschreven, op basis van het oppervlakte onder de groeicurve 'A'.

Tabel 10 Samengevatte resultaten screeningtesten (stap 1) (vol.% pw = volume percentage poriewater).

Techniek		Verontreinigde locatie (locatie 3)	Referentielocatie (Kaag)
alg	EC ₅₀ (vol.% pw): beoordeling effect: verklaarbaar ? / door: oordeel actueel risico: vervolgactie:	50 ernstig ja / Cu, Zn, som metaal Op beide locaties mogelijk actueel risico a.g.v. metalen. Risico op locatie 3 het grootste Géén, de beoordeling kan worden gestopt	66 matig ja / som metaal
bacterie	EC ₂₀ (vol.% pw): beoordeling effect: verklaarbaar ? / door: oordeel actueel risico: vervolgactie:	13 matig nee / - Op beide locaties mogelijk actueel risico a.g.v. niet gemeten, of verhoogde beschikbaarheid van stoffen/factoren Verder onderzoek naar mogelijke oorzaken effect: stap 3	20 matig nee / -
<i>T. platyurus</i>	LC ₅₀ (vol.% pw): beoordeling effect: verklaarbaar ? / door: oordeel actueel risico: vervolgactie:	41 ernstig ja / som metaal (fluorantheen, som PAK's)* Effect op beide locaties even hoog. Effect referentie niet veroorzaakt door metalen en waarschijnlijk ook niet door PAK's. Derhalve op beide locaties mogelijk actueel risico a.g.v. niet gemeten, of verhoogde beschikbaarheid van stoffen/factoren Verder onderzoek naar mogelijke oorzaken effect: stap 3	41 ernstig (fluorantheen, som PAK's)*
<i>B. calyciflorus</i>	LC ₅₀ (vol.% pw): beoordeling effect: verklaarbaar ? / door: oordeel actueel risico: vervolgactie:	70 matig ja / Cu, som metaal Effect op locatie 3 iets hoger dan op referentielocatie. Het effect op locatie 3 is verklaarbaar a.g.v. metalen. Het actueel risico a.g.v. metalen was reeds aannemelijk gemaakt voor deze locatie met de algentest. Gezien onverklaarbaar effect in referentie lijkt een deel van het effect waarschijnlijk ook veroorzaakt door niet gemeten of verhoogde beschikbaarheid van stoffen/factoren Wat betreft metalen: géén vervolg voor locatie 3 (voor de referentie is risico nog niet aannemelijk gemaakt), maar indien gewenst kan verder worden gezocht (stap 3) naar andere mogelijke oorzaken.	78 matig nee / onbekend

*: test wordt standaard uitgevoerd in het donker, waardoor PAK's als oorzaak effect onwaarschijnlijk is (zie 6.2.3).

In alle screeningtesten is voldaan aan de gestelde geldigheidscriteria en de testresultaten zijn vervolgens per test beoordeeld op basis van de betreffende beoordelingscriteria (zie bijlage 10). Op de wijze zoals beschreven in paragraaf 7.1.2 en 7.1.3 is bepaald of de eventuele waargenomen negatieve effecten verklaarbaar zijn op basis van de gemeten stoffen. De resultaten hiervan zijn weergegeven in bijlage 20. Tenslotte is conform tabel 7 (zie 7.1.1) een oordeel gegeven over het

¹⁶Hiervoor is gekozen omdat op het moment van uitvoering van deze bioassays de paragraaf over de verhoging van de kosten-effectiviteit van bioassays (5.5 en bijlage 14) nog niet was voltooid.

actueel risico en zijn eventuele vervolgacties aangegeven. In tabel 10 wordt e.e.a. samengevat weergegeven.

Met de algentest en de test met *T. platyurus* zijn ernstig negatieve effecten gemeten, terwijl met de bacterietest en de test met *B. calyciflorus* matig negatieve effecten zijn vastgesteld. Het merendeel van deze effecten is verklaarbaar op basis van een aantal metalen (vooral Cu en Zn). Het effect bij de bacterietest is echter niet verklaarbaar op basis van de gemeten stoffen en gehalten. Daarnaast gaf blootstelling aan het poriewater van de referentielocatie Kaag hier en daar een even hoog, maar onverklaarbaar effect. Derhalve is waarschijnlijk ook nog een actueel risico aanwezig van andere, nog niet geïdentificeerde factoren en/of stoffen. Het is ook mogelijk dat een of meerdere van de stoffen verhoogd biologisch beschikbaar zijn, en zo alsnog (een deel) van het effect kunnen verklaren. Indien gewenst kan dit met stap 3 (bioaccumulatietest) verder worden onderzocht.

Aangezien matig tot ernstig negatieve effecten zijn vastgesteld, waarbij deze effecten (deels) kunnen worden toegeschreven aan zware metalen (som metalen en met name koper en in geval van de algentest ook zink), kan worden gesteld dat een actueel ecologisch risico voor zware metalen aannemelijk is gemaakt. Derhalve wordt aanbevolen om de sanering ten aanzien van zware metalen op eco(toxico)logische basis als urgent te beschouwen.

Volgens het keuzesysteem is de toepassing van verdere stappen niet meer noodzakelijk. Zoals besproken in de inleiding zijn echter alle beoordelingstechnieken toegepast. Hierdoor bestaat de mogelijkheid om te kijken of deze 'extra' stappen nog aanvullende informatie leveren.

8.3.3 Stap 2: chronische bioassays

Als tweede stap in het keuzesysteem wordt in geval van mengsels aanbevolen om beide chronische bioassays toe te passen. Deze technieken zijn uitgevoerd op de wijze zoals beschreven in bijlage 11. In de bioassay met *D. magna* is een volledige verdunningsreeks van poriewater beoordeeld. Details betreffende de bereiding van de testmedia en/of -systemen en details betreffende de meting van de ranvoorwaardenparameters zijn eveneens beschreven in deze bijlage en in bijlage 8-IV en -V.

In beide chronische bioassays is voldaan aan alle gestelde geldigheidscriteria en de testresultaten zijn vervolgens per test beoordeeld op basis van de betreffende beoordelingscriteria (zie bijlage 11). De resultaten zijn samengevat weergegeven in tabel 11. Hierin is ook, conform tabel 7 (zie 7.1.1), een oordeel gegeven over het actueel risico en zijn eventuele vervolgacties aangegeven.

Tabel 11 Samengevatte resultaten chronische bioassays (stap 2) (vol.% pw = volume percentage poriewater, dw = droog gewicht).

Techniek	Verontreinigde locatie (locatie 3)	Referentielocatie (Kaag)
<i>D. magna</i>	NOEC _m (vol.% pw): 56 beoordeling effect: matig verklaarbaar? / door: ja / (Cu, Ni, Zn, som metalen en div. PAK's)* oordeel actueel risico: Actueel risico a.g.v. metalen reeds aannemelijk gemaakt in stap 1 Naast metalen bestaat er mogelijk ook een actueel risico a.g.v. PAK's vervolgactie: Wat betreft PAK's: validatie effect met andere techniek	100 geen n.v.t.
<i>C. riparius</i>	sterfte / L2-3 of dood / dw: 4% / 22% / 0,31mg (geen sign. verschillen**) 5% / 25% / 0,35 mg beoordeling effect: geen verklaarbaar? / door: n.v.t. oordeel actueel risico: Geen oordeel mogelijk vervolgactie: Beoordeling baseren op andere technieken	geen n.v.t.

* Effect mogelijk mede veroorzaakt door ammonium en/of geleidbaarheid (zie tekst);

** Locatie 3 getoetst tegen locatie Kaag.

Na blootstelling aan het poriewater van locatie 3 bleek de reproductiecapaciteit (r_m -waarde) van *D. magna* significant lager te zijn in het onverdunde poriewater ten opzichte van het blancotestmedium. Hierdoor is sprake van een matig negatief effect (de parameter sterfte gaf geen negatieve effecten en is derhalve niet weergegeven in tabel 11). Dit effect kan worden verklaard door de aanwezige gehalten van diverse metalen en PAK's. Het actuele risico voor metalen is reeds vastgesteld in stap 1, maar voor PAK's is dit de eerste aanwijzing voor een actueel risico. Aangezien slechts een matig toxisch effect is gemeten, dient het bestaan van een actueel risico van PAK's te worden gevalideerd met een andere techniek. De enige techniek die hiervoor nog in aanmerking zou kunnen komen is de bioaccumulatietest met oligochaeten (stap 3). Omdat voor doorvergiftiging MTR-criteria voor PAK's op dit moment echter nog ontbreken, is deze validatie niet mogelijk.

Ondanks de aanwezigheid van stoffen op locatie 3 in potentieel detecteerbare gehalten (koper, som metalen en DDD: zie bijlage 20) werden met de chronische bioassay met *C. riparius* geen significant negatieve effecten gemeten.

8.3.4 Stap 3: bioaccumulatietest

Als derde stap in het keuzesysteem wordt, indien zinvol, aanbevolen om de bioaccumulatietest met oligochaeten toe te passen. Deze toepassing is hier zinvol omdat voor een aantal van de betreffende verontreinigingen MTR-criteria beschikbaar zijn en omdat (deels) onverklaarbare effecten zijn gemeten in stap 1. Deze techniek is derhalve uitgevoerd op de wijze zoals beschreven in bijlage 12. Vanwege de hoge kosten van met name de chemische analyse van de oligochaeten is besloten om de test in enkelvoud uit te voeren en niet, zoals aanbevolen, in duplo. In deze test werd voldaan aan de geldigheidscriteria. De resultaten van deze beoordelingsstap zijn samengevat weergegeven in tabel 12.

Tabel 12 Samengevatte resultaten bioaccumulatietest (stap 3).

Techniek		Verontreinigde locatie (locatie 3)	Referentielocatie (Kaag)
Oligochaeten	MTR-overschrijding:	PCB-153, p,p'-DDE en p,p'-DDD	PCB-153
	beoordeling effect:	doorvergiftigingsrisico voor predatoren	doorvergiftigingsrisico voor predatoren
	oordeel actueel risico:	Actueel doorvergiftigingsrisico voor predatoren voor bovengenoemde stoffen	Actueel doorvergiftigingsrisico voor predatoren voor PCB-153
	vervolgactie:	géén	géén
	verhoogd bio-beschikbaar:	PCB-52, -101, -118, chloordaan*	Pb, benzo(a)anthraceen, alle PCB's, chloordaan*
	oordeel:	Effecten in stap 1 en 2 mogelijk mede veroorzaakt door chloordaan	Effecten in stap 1 mogelijk mede veroorzaakt door Pb en chloordaan
	vervolgactie:	(Indien gewenst) toxiciteitwaarden voor chloordaan in literatuur zoeken	

*: Toplaag bodem van locatie 3 en Kaag klasse 2 verontreinigd met chloordaan.

Op locatie 3 wordt het MTR-criterium voor PCB-153 (gidsstof voor PCB's met dioxine-achtige werking, den Besten, 1996), DDE en DDD overschreden en op locatie Kaag het criterium voor PCB-153. Voor deze stoffen is derhalve een actueel doorvergiftigingsrisico voor predatoren aannemelijk. Stap 3 levert dus aanvullende informatie over het risico van deze stoffen. Opvallend is dat in het Nader onderzoek uit 1992 (zie 8.2) in paling ook dermate hoge gehalten zijn aangetroffen dat ook hier PCB, DDE en DDD een doorvergiftigingsrisico vormden.

Op locatie 3 en Kaag is de biologische beschikbaarheid voor chloordaan verhoogd (gemeten BSAF hoger dan de voorspelde BSAF: zie bijlage 12). Op locatie Kaag is verder ook een verhoogde beschikbaarheid voor lood aangetoond. Een deel van de onverklaarbare effecten, zoals waargenomen in stap 1 met de screeningtesten (locatie 3 en met name locatie Kaag), kan hierdoor alsnog worden verklaard. Dit deel is echter niet kwantificeerbaar. Voor chloordaan is in dit

onderzoek bovendien nog niet in de literatuur gezocht naar toxiciteitwaarden omdat het niet een als van de meest bepalende verontreinigingen in regionale waterbodems wordt beschouwd (zie 1.2). Voor een verdere opheldering van de oorzaken kan eventueel aanvullend onderzoek worden overwogen (bijvoorbeeld TIE, zie 7.1.3).

De verhoogde biologische beschikbaarheid voor PCB (locatie 3 en Kaag) en benzo(a)anthraceen (Kaag) draagt waarschijnlijk niet veel bij aan de verklaarbaarheid van de waargenomen negatieve effecten in stap 1 en 2. Voor PCB's zijn namelijk geen acute toxische effecten bekend (zie 6.2.4) en wegens het uitvoeren van de screeningtesten in het donker, met uitzondering van de algentest, zal de bijdrage van benzo(a)anthraceen aan de acute toxiciteit waarschijnlijk nihil zijn geweest. Voor de algentest is echter géén toxiciteitwaarde bekend voor deze PAK, zodat het inzicht in de verhoogde beschikbaarheid hiervan ook niets toevoegt aan de verklaarbaarheid.

8.3.5 Stap 4 en 5: veldinventarisatie

Als laatste twee stappen in het keuzesysteem zijn de veldinventarisatietechnieken toegepast. De dichtheid en het aantal soorten bodembewonende organismen (stap 4) is bepaald op de wijze zoals beschreven in bijlage 13-I en bij de aangetroffen chironomiden is het percentage kaakmisvormingen bepaald (stap 5) volgens bijlage 13-II. De resultaten worden samengevat weergegeven in tabel 13.

Tabel 13 Samengevatte resultaten veldinventarisatie (stap 4 en 5) (gem. = gemiddelde van 5 happen, s.d. = standaard deviatie).

Techniek	Verontreinigde locatie (locatie 3)	Referentielocatie (Kaag)
Stap 4		
Oligochaeten	gem. dichtheid en s.d. (#/m ²): 142 (+/- 318) significant < dan referentie?: ja (P = 0,05: m.b.v. non-parametrische rangsomtoets vastgesteld) beoordeling effect: negatief effect	578 (+/- 215)
Chironomiden	gem. dichtheid en s.d. (#/m ²): 9 (+/- 20) significant < dan referentie?: ja: (P < 0,05: m.b.v. non-parametrische rangsomtoets vastgesteld) beoordeling effect: negatief effect	594 (+/- 287)
Bivalven	gem. dichtheid en s.d. (#/m ²): 0 significant < dan referentie?: ja: (P < 0,05: m.b.v. non-parametrische rangsomtoets vastgesteld) beoordeling effect: negatief effect	115 (+/- 107)
Gastropoden	gem. dichtheid en s.d. (#/m ²): 0 significant < dan referentie?: ja: (P < 0,05: m.b.v. non-parametrische rangsomtoets vastgesteld) beoordeling effect: negatief effect	738 (+/- 690)
Soorten	totaal aantal en s.d.: 1 (+/- 2) significant < dan referentie?: ja: (P < 0,05: m.b.v. non-parametrische rangsomtoets vastgesteld) beoordeling effect: negatief effect <u>eindoordeel effect stap 4:</u> verklaarbaar ? / door: ja / algehele verontreinigingsgraad oordeel actueel risico: actueel risico aannemelijk a.g.v. gemeten stoffen vervolgactie: géén	9 (+/- 3)
Stap 5		
aantal larven beoordeeld:	0 (géén <i>Chironomus</i> aangetroffen)	41
% misvormd:	-	9,8%
Chi-kwadraat:	-	- (te weinig larven beoordeeld)
beoordeling effect:	-	indicatief: géén
verklaarbaar ? / door:	n.v.t.	
oordeel actueel risico:	Geen oordeel mogelijk (te weinig larven beoordeeld)	
vervolgactie:	Beoordeling baseren op andere technieken	

De resultaten van stap 4 bevestigen dat voor de blootstelling aan de verontreinigde waterbodem van locatie 3 een actueel risico aannemelijk is. In combinatie met resultaten van de voorgaande stappen lijkt dit risico deels te worden veroorzaakt door metalen en mogelijk ook door chloordaan en PAK's. Voor een deel zullen ook niet geïdentificeerde factoren en/of stoffen hierbij een rol spelen. Kwantificering van de invloed van individuele stoffen of factoren is echter niet mogelijk op basis van deze resultaten.

Op locatie 3 zijn geen *Chironomus*-larven aangetroffen en op locatie Kaag zijn 41 larven aangetroffen. Bij minder dan 10% van deze 41 larven zijn misvormde kaken waargenomen, wat duidt op géén effect. Dit aantal is echter te weinig voor een betrouwbare beoordeling van deze parameter. Stap 5 levert derhalve géén aanvullende informatie.

Binnen dit onderzoek was de locatie Kaag als lokale referentielocatie voor de beoordeling van locatie 3 beschikbaar, zodat niet van normaalwaarden voor veenbodems gebruik hoefde te worden gemaakt (zie 7.1.3). Voor de beoordeling van de locatie Kaag zelf ligt dit anders. Hoewel nog géén normaalwaarden voor regionale veenbodems bekend zijn, kan worden gekeken naar de resultaten van het reeds eerder genoemde Typosed-onderzoek (zie 4.2.1). Hier bleek dat op klasse 0 t/m 2 veenbodems 1900 tot 2450 oligochaeten en 575 tot 1025 chironomiden per m² kunnen worden aangetroffen (AquaSense, 1993a). De gemiddelde dichtheid van chironomiden in de bodem van de Kaag (zie tabel 13) valt net binnen deze range, maar de dichtheid van oligochaeten op deze locatie is ruim een factor 3 lager dan de ondergrens van deze range. Naast de gemeten toxische effecten (stap 1) en het doorvergiftigingsrisico voor PCB-153 (stap 3) is dus ook de lage dichtheid van oligochaeten een aanwijzing dat de waterbodemkwaliteit van de Kaag niet optimaal is.

8.4 Discussie, conclusies, prognose en aanbevelingen

8.4.1 Discussie

Opmerkelijk is dat het bioaccumulatieonderzoek in paling voor locatie 3 voor dezelfde stoffen een doorvergiftigingsrisico aantoonde als de test met oligochaeten in het laboratorium. Dit kan berusten op toeval of het is een illustratie voor de homogene situatie in de Sassenheimervaart (zie 8.3.1) waardoor de meting in lab beter vergelijkbaar is met metingen in veld.

Verder werd in het bioaccumulatieonderzoek op beide locaties (locatie 3 en Kaag) een verhoogde biologische beschikbaarheid van chloordaan vastgesteld. Aangezien in dit onderzoek nog niet in de literatuur is gezocht naar toxiciteitswaarden voor deze stof, kan nog niet echt aannemelijk worden gemaakt dat het inzicht in de verhoogde beschikbaarheid van deze stof bijdraagt aan de verdere verklaarbaarheid van de waargenomen negatieve effecten.

Het is zeer waarschijnlijk dat een deel van de waargenomen negatieve resultaten wordt veroorzaakt door nog niet geïdentificeerde stoffen of factoren (zie 7.1.3). Dit geldt dan met name voor de locatie Kaag. Indien gewenst kan verder onderzoek meer inzicht hierin verschaffen. Voor dit onderzoek komt dan bijvoorbeeld de 'TIE'-benadering in aanmerking (zie 7.1.3).

Het doel van dit praktijkonderzoek in de Sassenheimervaart was tweeledig: 1) volgens de huidige inzichten beoordelen of een actueel ecologisch risico van de aanwezige verontreinigende stoffen aannemelijk is, en 2) vergaren van een maximum aan informatie over de kwaliteit van de waterbodem vlak voor de sanering (uitgangssituatie) om zo na sanering het effect van de sanering te kunnen monitoren. Zowel het eerste als tweede doel is gerealiseerd: er is reeds in de eerste beoordelingstap een actueel ecologisch risico van zware metalen aannemelijk gemaakt. De resultaten van de daarop volgende stappen ondersteunen deze bevinding en wijzen op het bestaan van een actueel risico van nog andere stoffen (PCB-153, DDE en DDD). Door de toepassing van alle geselecteerde beoordelingstechnieken, en dus niet te stoppen na stap 1, is dus ook

gedemonstreerd dat aanvullende informatie wordt verkregen. Deze informatie is zeer bruikbaar om de effecten van sanering te kunnen monitoren.

Het keuzesysteem bleek in deze praktijktoetsing praktisch toepasbaar doordat geen echte knelpunten zijn geconstateerd die een beoordeling van actuele risico's onmogelijk maken. Uitzondering hierop vormt het gebrek aan MTR-criteria voor doorvergiftiging voor PAK's. In de chronische bioassay met *D. magna* werd een matig negatief effect waargenomen dat mogelijk veroorzaakt werd door PAK's. Door het gebrek aan deze MTR-criteria kon het mogelijke actuele risico van PAK's echter niet verder aannemelijk worden gemaakt op basis van de resultaten van de bioaccumulatietest (stap 3).

8.4.2 Conclusies

Op basis van de resultaten van dit onderzoek kan worden geconcludeerd dat de verontreinigingen in de veenbodem van locatie 3 in de Sassenheimervaart een actueel risico vormen voor het ecosysteem. Deze conclusie is gebaseerd op de vastgestelde matig en ernstig toxische effecten in alle acute bioassays en in de chronische bioassay met *D. magna*. Waarschijnlijk zijn metalen (met name Cu en Zn) en mogelijk ook chloordaan en PAK's verantwoordelijk voor deze effecten. Met de geselecteerde technieken is het echter niet mogelijk om de precieze bijdrage van iedere stof te kwantificeren. Het bestaan van een actueel risico op locatie 3 wordt ondersteund door de negatieve effecten die zijn vastgesteld na een veldinventarisatie van de macrofauna en ook door het bestaan van een doorvergiftigingsrisico voor predatoren voor PCB-153, DDE en DDD. De saneringsurgentie is hiermee dus eco(toxico)logisch onderbouwd.

Verder kan worden geconcludeerd dat een goed beeld is gekregen van de ecotoxicologische kwaliteit van de waterbodem in de Sassenheimervaart op het moment vlak vóór de sanering. Deze informatie biedt houvast om het effect van de sanering in deze vaart te kunnen monitoren ná de sanering.

De conclusies die mede op basis van deze resultaten kunnen worden getrokken ten aanzien van de toepassing van het keuzesysteem worden weergegeven in het volgende hoofdstuk.

8.4.3 Prognose t.a.v. saneringssucces

Na de sanering (afgraven veenlaag) zal waarschijnlijk klasse 2/3 weinig materiaal vanuit de Kagerplas worden aangevoerd en sedimenteren in de Sassenheimervaart. Hiermee zal de kwaliteit van de top laag met name voor de waterbodembewonende organismen aanzienlijk verbeteren en zal de bodemlevensgemeenschap waarschijnlijk steeds meer gaan lijken op die van de hier onderzochte locatie 'Kaag'. De resultaten van dit onderzoek tonen echter ook aan dat het veen van de Kaag een actueel risico vormt omdat matige en ernstige negatieve effecten zijn gemeten in de acute bioassays, voor PCB-153 een doorvergiftigingsrisico voor predatoren is vastgesteld in de bioaccumulatietest, en mogelijk ook doordat de dichtheid van oligochaeten erg laag is. De negatieve effecten die voor het Kaag-monster zijn vastgesteld met bioassays zijn mogelijk deels toe te schrijven aan metalen (lood en soms metalen) en mogelijk ook chloordaan, maar worden waarschijnlijk ook voor een deel veroorzaakt door nog niet geïdentificeerde stoffen of factoren. Indien gewenst zal aanvullend onderzoek de mogelijke oorzaak van deze effecten verder moeten ophelderen. Mogelijk kan hierbij de TIE-benadering (zie 8.4.1) worden toegepast.

8.4.4 Aanbevelingen

De volgende aanbevelingen kunnen worden gedaan ten aanzien van aanvullend onderzoek:

- Verder opheldering van de oorzaak van negatieve effecten op de referentielocatie (Kaag). Mogelijk kan hierbij de 'TIE'-benadering worden toegepast;

- Toxiciteitgegevens zoeken in de literatuur voor chloordaan.

De aanbevelingen die op basis van deze resultaten kunnen worden gedaan ten aanzien van de toepassing van het keuzesysteem worden weergegeven in het volgende hoofdstuk.

9 DISCUSSIE, CONCLUSIES EN AANBEVELINGEN

9.1 Discussie

In dit rapport wordt in de vorm van een keuzesysteem een leidraad gepresenteerd waarmee, als onderdeel van het Nader onderzoek, (het ontbreken van) een actueel ecologisch risico aannemelijk kan worden gemaakt. Dit keuzesysteem voldoet aan de vier gestelde randvoorwaarden: (1) het systeem is gebaseerd op de toepassing van biologische technieken (bioassays en veldinventarisatie), (2) het systeem is locatiespecifiek omdat de mate en aanwezigheid van specifieke verontreinigende stoffen bepaalt welke technieken worden toegepast, (3) het systeem is kosten-effectief doordat een stapsgewijze benadering wordt gevolgd en de mogelijkheid wordt geboden om de bioassays efficiënter toe te passen. Het keuzesysteem voldoet ook aan de vierde randvoorwaarde: (4) aansluiten op de Wet Bodembescherming. Daar staat immers dat beargumenteerd kan worden afgeweken van het daar gestelde, en dat met behulp van bioassays en veldwaarnemingen de beoordeling van de urgentie kan worden verbeterd (ten opzichte van het uitsluitend meten van gehalten van stoffen). Door de toepassing van dit systeem in de praktijk zal nog moeten blijken in hoeverre het bevoegd gezag hiermee om zal gaan.

Aan de hand van een voorbeeldonderzoek is gedemonstreerd hoe in praktijk met het keuzesysteem kan worden omgegaan. Hiervoor is in overleg met de betreffende beheerder (Hoogheemraadschap van Rijnland) gekozen voor de locatie Sassenheimervaart. De veenbodem van deze vaart is matig tot ernstig verontreinigd met een cocktail aan verontreinigingen (PCB, DDT, PAK, metalen en olie). Deze waterbodem is beoordeeld met alle in dit rapport geselecteerde beoordelingstechnieken. De resultaten op deze praktijklocatie illustreren (zie hoofdstuk 8) dat het de overweging waard is om, wanneer het budget dit toelaat, de randvoorwaarde 'kosten-effectiviteit' niet al te strikt te nemen. In de eerste stap (screeningtesten) kon namelijk reeds een actueel risico als gevolg van zware metalen aannemelijk worden gemaakt en de beoordeling had hier kunnen stoppen. In de daarna volgende 'extra' stappen werd dit actueel risico van metalen echter verder onderbouwd door de resultaten van stap 3 (bioaccumulatie) en stap 4 (veldinventarisatie), en in mindere mate ook van stap 2 (chronische bioassays), en kon de oorzaak van de effecten verder worden opgehelderd op basis van het resultaat van stap 3. Deze stap leverde bovendien aanvullende informatie namelijk over het actueel doorvergiftigingsrisico van PCB en DDE en DDD.

De resultaten van het praktijkvoorbeeld tonen ook aan dat het zinvol kan zijn om de in theorie minder gevoelige screeningtesten toe te passen en niet uitsluitend te kiezen voor het toepassen van de voor de meeste stoffen gevoeliger chronische bioassays. Met de acute algentest kon bijvoorbeeld op de referentielocatie 'Kaag' wel een matig negatief effect als gevolg van blootstelling aan metalen (som TE = 0,15)¹⁷ aannemelijk worden gemaakt, terwijl met de, in theorie, voor metalen 'gevoeliger' chronische bioassay met *D. magna* (som TE = 1,32) géén negatieve effecten werden gemeten.

Verder bleek het keuzesysteem in deze praktijktoetsing praktisch toepasbaar doordat geen echte knelpunten zijn geconstateerd die een beoordeling van actuele risico's onmogelijk maken. Uitzondering hierop vormt het gebrek aan MTR-criteria voor doorvergiftiging voor een groot aantal stoffen en met name voor PAK's, waardoor de bioaccumulatie (stap 3) op dit moment nog niet toepasbaar is voor het beoordelen van het doorvergiftigingsrisico van deze stoffen.

¹⁷TE = Trefkansseenheid = (actuele concentratie van een bepaalde stof in poriewater) / (L(E)C₅₀-waarde voor die stof). Indien voor een stof of voor stoffen met een vergelijkbaar werkingsmechanisme de (gesommeerde) TE groter of gelijk is dan 0,1, dan wordt gesteld dat het aannemelijk is dat deze een bijdrage aan het gemeten effect heeft (hebben) gehad. Hoe hoger de (som) TE, hoe gevoeliger de betreffende bioassay in theorie is voor deze bepaalde stof of stofgroep (zie 6.2.1, 7.1.2 en 7.1.3).

Een van de doelen van dit onderzoek is om de waterkwaliteitsbeheerders een leidraad aan te reiken voor de ecotoxicologische beoordeling van waterbodems en niet een dwingende methodiek. Om flexibel en creatief te kunnen omgaan met deze leidraad is echter enige expertise nodig om bijvoorbeeld een afwijkende volgorde van de stappen in het keuzesysteem en/of het toepassen van additionele beoordelingstechnieken te kiezen en te beargumenteren. Verder is deze expertise nodig bij de beoordeling van de testresultaten. Door de Raad voor het Milieu- en Natuuronderzoek (RMNO, 1996) wordt gesteld dat dit probleem kan worden opgelost door een actievere kennisoverdracht tussen producenten van kennis (onderzoeksinstituten, adviesbureaus, RIVM, RIZA etc.) en gebruikers (beheerders). Naast het aanbieden van handleidingen (o.a. de voorliggende leidraad) kan als aanvullend instrument worden gekozen voor het opzetten en aanbieden van cursussen (symposia, workshops, etc.), bijvoorbeeld in samenwerking met de Stichting Wateropleidingen, en/of het opzetten van een helpdesk.

Een van de belangrijkste wensen van de waterkwaliteitsbeheerders ten aanzien van een beoordelingsmethode is dat daarmee een eenduidige relatie tussen de mate van effect en het gehalte aan specifieke stoffen kan worden vastgesteld (zie 3.2.3). In het STOWA-onderzoek naar de toepassing van biologische technieken voor het actief monitoren van verontreinigd oppervlaktewater (STOWA, 1997) werd geconcludeerd dat het nut van de toepassing van biologische technieken is 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. De in het voorliggende onderzoek geselecteerde technieken zijn, met uitzondering van de bioaccumulatietest met oligochaeten, dan ook niet of nauwelijks stofspecifiek (zie 7.1.3). Wel is het mogelijk om relaties tussen negatieve effecten en specifieke stoffen *aannemelijk* te maken en zo een ecotoxicologische indicatie te krijgen van de probleem veroorzakende stoffen. Indien het vaststellen van eenduidige oorzaak-gevolg-relaties gewenst is, kan de beoordeling worden vervolgd met bijvoorbeeld de toepassing van complementaire technieken zoals bijvoorbeeld de 'Interstitial Water Toxicity Identification Evaluation (TIE)'-benadering (zie 7.1.3 en hoofdstuk 8). Ook de toepassing van biomarkertesten, eventueel gecombineerd met (selectieve) extractietechnieken kan in de nabije toekomst (schatting: binnen nu en 5 jaar praktisch beschikbaar) informatie leveren die meer specifiek is. Gezien de relatief hoge kosten die aan deze additionele technieken zijn verbonden, zullen deze technieken voornamelijk worden toegepast op locaties waar, bijvoorbeeld volgens de in deze rapportage gepresenteerde leidraad, duidelijk actuele ecotoxicologische risico's zijn vastgesteld.

9.2 Conclusies

In dit onderzoek is een keuzesysteem ontwikkeld dat gericht is op de toepassing van biologische beoordelingstechnieken (bioassays en veldinventarisatie) waarmee locatiespecifiek en, vanwege de stapsgewijze toepassing, kosten-effectief (het ontbreken van) een actueel risico van waterbodemverontreinigingen *aannemelijk* gemaakt kan worden.

De geselecteerde beoordelingstechnieken zijn, met uitzondering van de bioaccumulatietest met oligochaeten, niet of nauwelijks stofspecifiek en derhalve niet bedoeld om eenduidig relaties tussen oorzaken en effecten vast te stellen. De technieken leveren *complementaire* informatie 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. Indien gewenst kan met aanvullend onderzoek (zie aanbevelingen) de oorzaak van eventuele negatieve effecten verder worden opgehelderd.

Mede op basis van de resultaten van het praktijkonderzoek in de Sassenheimervaart kan ten aanzien van de toepassing van het keuzesysteem het volgende worden geconcludeerd:

- Het systeem is praktisch toepasbaar en voldoet aan de eerder gestelde randvoorwaarden;

- Een flexibele en creatieve omgang met het keuzesysteem (andere volgorde van technieken, toepassing additionele technieken) vraagt om enige expertise van de gebruiker;
- Toepassing van extra beoordelingstechnieken kan:
 - tot aanvullende inzichten leiden (actuele risico's voor nog andere stoffen, en mogelijk ook van niet gevalsbepalende stoffen);
 - het bestaan van actuele risico's verder onderbouwen;
 - oorzaken van effecten verder ophelderen;
 - meer informatie leveren om urgente gevallen te kunnen prioriteren.
- Het toepassen van alle geselecteerde beoordelingstechnieken (acute en chronische bioassays, bioaccumulatietest en veldinventarisatie) geeft een goed beeld van de ecotoxicologische kwaliteit van waterbodems op het moment vlak vóór de sanering. Deze informatie biedt houvast om het saneringseffect te kunnen monitoren.

9.3 Aanbevelingen

Naar aanleiding van de resultaten van het voorliggende onderzoek zijn de volgende aanbevelingen geformuleerd:

Ten aanzien van de toepassing van het keuzesysteem:

- Toepassen van het ontwikkelde keuzesysteem op meerdere locaties en verschillende bodemtypen zodat het systeem verder wordt gevalideerd en meer inzicht in de toepasbaarheid wordt verkregen (zie hoofdstuk 8);
- Opzetten van een helpdesk, of het organiseren van cursussen, symposia of workshops, bijvoorbeeld in samenwerking met de Stichting Wateropleidingen, om de kennis over te dragen die nodig is om flexibel en creatief te kunnen omgaan met het keuzesysteem (zie 9.1);
- Toepassing van extra (of alle) beoordelingsstappen en/of additionele technieken (zie verderop) overwegen wanneer het budget dit toelaat (zie 7.3 en vorig hoofdstuk), bijvoorbeeld om op basis van deze aanvullende informatie het effect van een sanering beter te kunnen monitoren.

Ten aanzien van het beoordelen van toxische effecten:

- Ter verhoging van de kosten-effectiviteit en de gevoeligheid van de voor het doel van dit onderzoek geselecteerde bioassays: testen van slechts één of twee concentraties poriewater, met een verhoogd aantal replica's (zie 5.5 en bijlage 14);
- Bij de beoordeling van ondiepe, met PAK verontreinigde waterbodems, alle acute en chronische bioassays uitvoeren bij een continue belichting. Hierdoor wordt namelijk ook de toxiciteit van PAK-metabolieten, ontstaan na foto-oxydatie, in de beoordeling meegenomen (zie 6.2.3);
- Wanneer technieken voor het concentreren van waterige monsters (poriewater, elutriaat) voldoende zijn doorontwikkeld en gevalideerd (schatting: binnen nu en 5 jaar), deze eventueel gebruiken om de gevoeligheid en de stofspecificiteit van de geselecteerde bioassays te verhogen (zie 6.5.2);
- Toxiciteitsgegevens zoeken in de literatuur voor chloordaan (zie 8.4.4).

Ten aanzien van het beoordelen van doorvergiftigingsrisico's:

- Formuleren van MTR-doorvergiftigingscriteria voor meer stoffen en in elk geval voor een aantal PAK's (zie 6.3 en hoofdstuk 8);
- Onderzoek naar de haalbaarheid van het uitvoeren van bioaccumulatietesten met in het laboratorium gekweekte oligochaeten (zie 6.3);

Ten aanzien van het beoordelen van negatieve effecten in het veld:

- Niet volledig tot op soort gedetermineerde macrofaunamonsters per bodemhap apart conserveren, documenteren en bewaren. Deze monsters kunnen dan eventueel later worden gedetermineerd en verwerkt zodat deze informatie alsnog beschikbaar is, bijvoorbeeld ten behoeve van de volgende aanbeveling (zie 5.3);
- Verder onderzoek naar het voorkomen van macrofauna in diverse Nederlandse, schone regionale watertypen, zodat het inzicht in de 'normaal'- of referentiewaarden per watertype wordt vergroot (opstellen ecologische typologie). Gecombineerd met een inzicht in de relatie tussen het voorkomen en de abundantie van soorten en de verontreinigingsgraad, kunnen vervolgens (betere en scherpere) beoordelingscriteria worden afgeleid (zie 3.2.2, 5.3.3 en bijlage 13).

Ten aanzien van de toepassing van complementaire (nieuwe) technieken:

- Verdere ervaring opdoen met het toepassen van de 'Interstitial Water Toxicity Identification Evaluation (TIE)'-benadering met zoete waterbodemonsters om hiermee oorzaak-gevolg-relaties meer eenduidig vast te stellen (zie 7.1.3 en hoofdstuk 8);
- Wanneer (in de nabije? toekomst) meer inzicht is verkregen in welke stoffen in milieumonsters verantwoordelijk zijn voor mutagene effecten, en wanneer een betere doorvertaling kan worden gemaakt in termen van risico's voor hogere organismen, dan kan de routinematige inzet van mutageniteitstesten met micro-organismen ook bij de beoordeling van waterbodems worden overwogen (zie 6.5.1);
- Wanneer biomarkertesten voldoende zijn doorontwikkeld en gevalideerd (schatting: binnen nu en 5 jaar), deze (eventueel in combinatie met een concentreringsstap) opnemen in het keuzesysteem om zo de stofspecificiteit en de gevoeligheid voor verontreinigingen te verhogen (zie 6.5.2);
- Verder onderzoek naar de mogelijkheden van de toepassing van *in situ*-technieken zoals veldbioassays om daarmee de afstand tussen lab en veld te verkleinen (zie 6.5.3).

10 BEGRIPPENLIJST

Verklaringen van de woorden en begrippen zijn specifiek voor deze rapportage en zijn dus niet in alle gevallen algemeen geldend. Een aantal begrippen zijn rechtstreeks overgenomen uit de circulaire 'Inwerkingtreding saneringsregeling Wet Bodembescherming' (Ministerie van VROM, 1994).

abiotische factoren Niet aan levende organismen verbonden factoren zoals temperatuur, pH, vochtgehalte en andere fysische en chemische factoren die van invloed kunnen zijn op het resultaat van biologische technieken (bioassays e.d.);

abundantie Relatief aantal individuen van een soort of van een groep van soorten in een bepaald habitat;

accumulatie Zie bioaccumulatie;

actieve (bio)monitoring Het blootstellen van een (groep van) - gevoelig(e) - organisme(n) in de veldsituatie of het laboratorium aan een milieumonster 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 vanuit het veld 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 Waterbodembewonende planten, dieren en micro-organismen;

beoordeling Evaluatie van de fysische, chemische en biologische analyseresultaten in relatie tot van tevoren 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;

biologische afbraak Een door enzymen gekatalyseerde afbraak van een verbinding;

biologische beschikbare fractie Het deel van een toxicant in (porie)water of sediment dat kan worden opgenomen door levende organismen;

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;

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 organismen om de kwaliteit van het milieu weer te geven;

carcinogeen Het indiceren van gezwellen door chemische, fysische of biologische oorzaken;

Chironomus riparius Dansmuggen soort. De larven van deze soort komen voor in Nederlandse waterbodems en worden vanwege hun gevoeligheid en makkelijke hanteerbaarheid gebruikt in bioassays;

chronisch (bioassay/effect) Heeft betrekking op de duur van de bioassay of de tijdsperiode 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 mengsel dat bestaat uit vele verschillende stoffen/verbindingen;

concentratie De hoeveelheid van een stof in het milieu (water, bodem of lucht);

controle Simultaan in bioassay getest monster bestaande uit hetzelfde verdunningsmedium als in de testconcentraties, echter in afwezigheid van een toxicant;

Daphnia magna Watervlooiensoort, algemeen voorkomend in Nederlandse stilstaande of langzaam stromende wateren en vanwege hun gevoeligheid en makkelijke hanteerbaarheid gebruikt in bioassays;

diagnose Risicobeoordeling achteraf, wanneer een waterbodem reeds is verontreinigd. Dit is het tegenovergestelde van prognose (zie prognose);

doorvergiftiging Het doorgeven van toxische verontreinigingen via de voedselketen;

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;

EC₅₀ 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 of in de waterbodem. 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);

elutriaat Het extract van een sediment wat verkregen wordt door het sediment te "wassen" met water (waterig elutriaat) of met een organisch oplosmiddel (organisch elutriaat);

ER Ernstig Risiconiveau: het niveau waarbij 50% van alle potentieel aanwezige soorten in een ecosysteem mogelijk nadelige effecten ondervindt;

evenwichtpartitie Met behulp van bestaande, relatief eenvoudige formules is het mogelijk om in geval van een evenwichtssituatie een schatting te maken van de verhouding tussen de hoeveelheid toxicant die gebonden is aan de waterbodem, opgelost is in het (porie)water en in het testorganisme aanwezig (gebioaccumuleerd) is;

evenwichtssituatie Situatie waarbij er geen netto verandering meer optreedt in de hoeveelheid gebonden (bijv. aan organische stof) en biologische beschikbare (opgeloste) hoeveelheid toxicanten;

fototoxiciteit Verhoging of activering van de toxiciteit van stoffen (bijv. PAK's) onder invloed van (zon)licht, meestal doordat de oorspronkelijke, niet toxische stof onder invloed van licht (fotodegradatie) wordt afgebroken tot toxische afbraakproducten;

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

generiek Algemeen geldend;

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 of techniek 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 waterbodembodem. Hiervoor geldt een inspanningsverplichting van de waterbeheerder: deze moet het mogelijke doen om de doelstelling binnen de gestelde termijn te realiseren;

habitat Plaats waar een plant of dier leeft;

halofiel Zoutminnend;

hydrofoob waterafstotend;

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

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;

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;

integriteit van een monster Karakteristieken van het monster (organisch stofgehalte, pH etc.) vóór verwerking (uitgangsmateriaal);

interne concentratie Hoeveelheid toxicant in het organisme uitgedrukt op basis van droog gewicht of op basis van vet;

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

lab(oratorium)-bioassays Zie bioassays;

LC₅₀ Letale Concentratie: geschatte concentratie toxicant waarbij de helft van de testorganismen zou sterven na een bepaalde blootsteldingsduur;

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 verwerking;

MFO Mixed Function Oxidase: een enzym dat een rol speelt bij de afbraak van organische verbindingen;

milieuhygiënische beoordeling Beoordeling van de potentiële toxiciteit van sedimentmonsters;

milieummonster 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;

MTR Maximaal Toelaatbaar Risiconiveau: het niveau waarbij 95% van alle potentieel aanwezige soorten in een ecosysteem worden beschermd;

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;

mutageniteitmonitor(ing) Het beoordelen op de aanwezigheid van mutagene of genotoxische stoffen;

Nader onderzoek Onderzoek met betrekking tot de vraag of een geval van waterbodembodemverontreiniging is een geval van ernstige verontreiniging is;

narcotiserende stoffen Stoffen die geen specifiek aangrijpingspunt hebben in een organisme. Hierdoor is sprake van een aspecifiek werkingsmechanisme. De werking is als volgt: de stoffen zijn hydrofoob en hopen zich daardoor op in hydrofobe compartimenten van een organisme zoals membranen. Hierdoor wordt een algemene verstoring van de structuur van deze membranen veroorzaakt, wat leidt tot toxische effecten;

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 de waterbodembodem;

normaalwaarde Waarde of bandbreedte van waarden die een biologische parameter kan aannemen onder relatief schone (= niet verontreinigde) omstandigheden;

octanol-waterverdelingscoëfficiënt (Kow) de verhouding tussen de concentratie van een stof in n-octanol en water, nadat zich een evenwicht tussen de twee fasen heeft ingesteld;

opnamekinetiek Wijze van opname van toxicanten (passief of actief) door testorganismen;

Oriënterend onderzoek Onderzoek naar aanleiding van een vermoeden dat sprake is van een geval van waterbodemonverontreiniging;

overleving Aantal nog levende testorganismen aan het einde van de bioassay uitgedrukt als percentage of fractie van het aantal ingezette organismen;

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);

pathologische effecten door ziekte veroorzaakte veranderingen in cellen, weefsels of organen;

PCB Polychloorbifenylen;

pelagische organismen Organismen die in de waterkolom boven het sediment leven;

Photobacterium phosphoreum Luminescerende zoutwaterbacterie. Deze bacterie wordt vanwege de gevoeligheid en makkelijke hanteerbaarheid gebruikt in bioassays;

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;

prognose Risicobeoordeling voordat een verontreiniging in de waterbodem is terecht gekomen. Dit is het tegenovergestelde van diagnose (zie diagnose);

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 testvatje. Bij een toename in aantal replica's neemt ook de betrouwbaarheid van het testresultaat toe;

reproduceerbaarheid Mate van herhaalbaarheid van een bioassayresultaat;

risico Het produkt van de kans op blootstelling van een organisme aan een bepaalde giftstof en de kans dat bij die blootstelling een bepaald (negatief) effect optreedt;

r_m-waarde Maat voor de reproductie van *Daphnia magna*;

sanering Geheel van maatregelen gericht op het beperken en zoveel mogelijk ongedaan maken van verontreiniging en de directe gevolgen daarvan of van dreigende verontreiniging van de waterbodem;

saneringsonderzoek Inventarisatie van de mogelijke wijzen van sanering en de kwaliteit van de waterbodem die met de op die wijzen uitgevoerde sanering zal worden bereikt, uitmondend in een keuze voor de wijze van sanering;

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 (zie waterbodem);

sediment/watersysteem Testsysteem bestaande uit 1 volumedeel (verontreinigd of controle) sediment en 4 delen van een gestandaardiseerd water. Na schudden en bezinken worden hierin de testorganismen ingezet, die zich vervolgens ingraven in het sediment en aldus worden blootgesteld aan de toxicant. Een bioassay uitgevoerd volgens dit systeem wordt ook wel sediment-contacttest genoemd;

signaleringswaarde Doelstelling ten aanzien van de algemene milieukwaliteit van waterbodem en allen van toepassing voor metalen. De waarde ligt boven de interventiewaarde, overschrijding hiervan moet in principe leiden tot directe actie;

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.

stof(fen)test Bioassay met als doel de beoordeling van één stof. Wordt ook aangeduid als toxiciteitstest;

stofspectifieke benadering De beoordeling van de milieukwaliteit gebaseerd op de chemische concentratie en toxiciteit van individuele stoffen;

streefwaarde Lange termijn (2000+) doelstelling ten aanzien van de algemene milieukwaliteit van de waterbodem. Deze waarde geeft het kwaliteitsniveau aan waarop de functionele eigenschappen van de waterbodem zijn veiliggesteld. 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 (monitoring) Lab-bioassay, veldbioassay, biologisch bewakingssysteem, ecosysteemmonitor, bioaccumulatie-test, mutageniteitstest, veldinventarisatie;

techniek (reiniging) Methode om toxicanten te verwijderen uit verontreinigde baggerspecie;

testbatterij Set van geselecteerde bioassays die gelijktijdig worden ingezet. Hierbij wordt gestreefd naar de inzet van bioassays die elkaar zo weinig mogelijk zullen overlappen wat betreft hun gevoeligheid voor bepaalde toxicanten (bijvoorbeeld gebruik makend van organismen van verschillende trofische niveaus);

toetsingswaarde Geen milieukwaliteitsdoelstelling voor waterbodem, maar een praktisch criterium dat wordt gehanteerd in het verspreidingsbeleid van baggerspecie;

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 zowel bioassays (in het laboratorium of in het veld), als het waarnemen van effecten in het veld;

toxiciteitstest Bioassay met als doel de beoordeling van één stof. Wordt ook aangeduid als stoftest;

Toxkit-test Acute toxiciteitstest waarbij de testorganismen worden verkregen uit gedroogde cysten, wintereieren of beads. Doordat gebruik wordt gemaakt van exact hetzelfde biologische materiaal, dezelfde levensstadia, verdunningsmedium, testvatjes etc., wordt een zeer hoge graad van standaardisatie bereikt;

trekkans eenheid De concentratie toxicant in een (onverdund) poriewater uitgedrukt als fractie van de $L(E)C_{50}$ -waarde;

Triade-benadering Methode waarmee verontreinigde waterbodems milieuhygiënisch kunnen worden beoordeeld na combinatie van drie (Triade) onderdelen: chemische, ecotoxicologische en veldwaarnemingen;

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) in een testsysteem het veld worden blootgesteld aan de verontreinigde waterbodem;

VR Verwaarloosbaar Risiconiveau: ligt in principe een factor 100 onder het MTR (zie MTR), waarbij rekening is gehouden met de mogelijkheid tot combinatietoxiciteit (zie combinatietoxiciteit);

waterbodem De onder het oppervlaktewater aanwezige bodem;

worst-case-benadering Benadering waarbij het eindoordeel wordt afgeleid van de meest gevoelige bioassay.

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 oppervlakte of poriewater.

11 REFERENTIES

- AquaSense, 1993a. Biologische Typologie Zoete Waterbodems. Normaalwaarden voor biologische parameters. In opdracht van: Rijksinstituut voor Integraal Zoetwaterbeheer en Afvalwaterbehandeling, Dienst Getijdewateren en regionale directies van Rijkswaterstaat. Rapport 92.0241.
- AquaSense, 1993b. Toxiciteit van kunstmatig verontreinigde waterbodems in relatie tot waterbodempkwaliteitsnormen. Chronische toxiciteit voor aquatische oligochaeten. In opdracht van: Rijksinstituut voor Integraal Zoetwaterbeheer en Afvalwaterbehandeling. Rapport 92.0228.
- AquaSense, 1994a. Beoordeling toxiciteit van poriewater vóór en na XAD-concentrerend. Beoordeling met behulp van bioassays. In opdracht van: Rijksinstituut voor Integraal Zoetwaterbeheer en Afvalwaterbehandeling. Rapport 94.0576.
- AquaSense, 1994b. Beoordeling toxiciteit van poriewater vóór en na XAD-concentrerend. Beoordeling met behulp van bioassays. In opdracht van: Rijksinstituut voor Integraal Zoetwaterbeheer en Afvalwaterbehandeling. Rapport 94.0576.
- AquaSense, 1995. Bioassays ter beoordeling van waterbodempkwaliteit Nieuwe Merwede. Bioassays met *Photobacterium phosphoreum*, Toxkits, *Daphnia magna* en *Chironomus riparius*. In opdracht van: Rijkswaterstaat Directie Zuid-Holland. Rapport 95.0746.
- AquaSense, 1996a. Ecotoxicologische risico's in een verontreinigde uiterwaard van de Nieuwe Merwede. Situatie voor aanvang van een proefsanerend. In opdracht van: Rijkswaterstaat Directie Zuid-Holland. Rapport 96.0868.
- AquaSense, 1996b. Beoordeling van baggerspecie aan de hand van uitloogtesten en bioassays. Een vergelijking van testmethoden met materiaal uit de Nieuwe Merwede. In opdracht van: Rijksinstituut voor Integraal Zoetwaterbeheer en Afvalwaterbehandeling (RIZA) en Programmabureau Ontwikkeling Saneringsprocessen Waterbodems (POSW). Rapport 96.0803.
- AquaSense, 1996c. Verslag van 2^e TOXKIT-dag. Amsterdam, 25 april 1996.
- AquaSense, 1997. Ecotoxicologisch onderzoek Afferdensche en Deestsche Waarden. Situatie vóór aanleg van een meestromende nevengeul t.b.v. natuurontwikkeling. In opdracht van: Rijksinstituut voor Integraal Zoetwaterbeheer en Afvalwaterbehandeling (RIZA). Rapport 97.0817.
- AquaSense, *in prep.* Ecotoxicologisch onderzoek Sassenheimervaart. Beoordeling van het actueel ecologisch risico van de verontreinigde waterbodem - In opdracht van : Hoogheemraadschap van Rijnland. Rapport 97.1025.
- Beek, M.A., 1995. De risico's van normen; een overzicht van de methodiek en afgeleide (eco)toxicologische risicogrenzen ter onderbouwing van Streef-, Grens-, en Interventiewaarden. Lelystad, RIZA werkdokument 95.097x, WSC Ecotoxicologie 94.10, september 1995.
- Berends, P., Broekhoven, A. van, Jagtman, E., Peters, H., Rooy, P. van, Turkstra, E., Wit, S. de & Wulffrat, K., 1995. Ruimte voor water. Visienotitie als aanzet voor discussie. Projectteam NW4, oktober 1995.
- Besten, P.J. den 1993. Biotisch effectonderzoek ten behoeve van Nader onderzoek Nieuwe Merwede. Ministerie van Verkeer en Waterstaat, Rijkswaterstaat, Rijksinstituut voor Integraal Zoetwaterbeheer en Afvalwaterbehandeling (RWS, RIZA) - Lelystad: RIZA Nota 93.020 Rotterdam: Directie Zuid-Holland Rapport NAOZ 5.500.4.2.
- Besten, P.J. den, 1996. Biologische beschikbaarheid van contaminanten in verouderd sediment. Resultaten bioaccumulatie-bioassays met Oligochaeten in sediment uit de Dordtsche Biesbosch en Geulhaven. Rijkswaterstaat, RIZA, werkdokument 95.176x, 9 mei 1996.

- Besten, P.J. den, 1997. Biotisch effectonderzoek Hollandsch Diep en Dordtsche Biesbosch in het kader van Nader Onderzoek Waterbodems. Nota RIZA/RWS Directie Zuid-Holland.
- Besten, P.J. den, Schmidt, C.A., Ohm, M., Ruys, M.M., Berghem, J.W. van & Guchte, C. van de, 1995. Sediment quality assessment in the delta of the rivers Rhine and Meuse based on field observations, bioassays and food chain implications. *Journal of Aquatic Ecosystem Health* Vol. 4, No.4.: pp 257-270.
- BKH, 1992. Waterbodems de Zijl, Leiden (ZH/801/228). Nader onderzoek. Band 1 en band 2, september 1992.
- BKH, 1993. Waterbodems de Zijl, Leiden (ZH/801/228). Nader onderzoek, band 3, februari 1993.
- Botterweg, J. (red.), 1996. RIZA Handboek: Toxicologie en lozingsvergunningen (concept). Hoofdafdeling Emissies-procestechnologie, Hoofdafdeling Watersystemen-ecotoxicologie. RIZA, Lelystad. Notanr. 96.045, ISBN-nr. 903695004X.
- Brils, J.M. & Besten, P.J. den, 1995. Bioassays: het orakel van de ecotoxicologie? In opdracht van: Programma Ontwikkeling Saneringsprocessen Waterbodems (POSW), Rijksinstituut voor Integraal Zoetwaterbeheer en Afvalwaterbehandeling (RIZA). AquaSense rapport 94.0681.
- Brock, T.C.M., Bos, A.R., Crum, S.J.H. & Gijlstra, R., 1993. The model ecosystem approach in ecotoxicology as illustrated with a study on the fate and effects of an insecticide in stagnant freshwater microcosms. In: Murk, A. (red.), 1993. Ecotoxicologie. Collegesyllabus cursus ecotoxicologie. Vakgroep Toxicologie, Landbouwwuniversiteit Wageningen.
- Burton, G.A., 1992. Sediment toxicity assessment. Lewis publishers, Chelsea, USA, 457 p.
- Burton, G.A., Hickey, C.W., DeWitt, T.H., Roper, D.S., Morrissey, D.J. & Nipper, M.G., 1996. *In Situ* Toxicity Testing: Teasing Out the Environmental Stressors. SETAC - Europe News, November 1996, Vol. 7, issue 6, pp 6-9.
- Centeno, M.D.F., Persoone, G. & Goyvaerts, M.P., 1994. Cyst-based toxicity tests. IX. The potential of *Thamnocephalus platyurus* as test species in comparison with *Streptocephalus proboscideus* (Crustacea: Branchiopoda: Anostraca), *Environ. Toxicol. Water Qual. Int.J.*
- Chapman, P.M., 1995. Sediment quality assessment: status and outlook. *Journal of Aquatic Ecosystem Health* Vol. 4, No. 3, pp 183-194.
- Clark, R.C. & Brown, D.W., 1977. Petroleum: properties and analysis in biotic and abiotic systems. In Malins, D.C. (Ed.): Effects of petroleum on arctic and subarctic marine environments and organisms. Vol I: nature and fate of petroleum. Academic Press, pp 1-89.
- Cooman, W. de (red.), 1995a. Methodologische studie naar de inventarisatie, de ecologische effecten en de sanering van de bodems van de Vlaamse waterlopen. Eindrapport - Deel evaluatie waterbodems, September 1995. In opdracht van: Ministerie van de Vlaamse Gemeenschap, AMINAL/Afdeling water en Administratie Waterinfrastructuur en Zeewezen.
- Cooman, W. de (red.), 1995b. Handboek voor de karakterisatie van de bodems van de Vlaamse waterlopen. In opdracht van: Ministerie van de Vlaamse Gemeenschap, AMINAL/Afdeling water en Administratie Waterinfrastructuur en Zeewezen.
- Creasel, 1990a. ROTOXKIT F. Rotifer toxicity screening test for freshwater. Standard operational procedure. 22p.
- Creasel, 1990b. THAMNOTOXKIT F. Crustacean toxicity screening test for freshwater. Standard operational procedure. 23p.
- Creasel, 1996a. DAPHTOXKIT F™. Crustacean toxicity screening test for freshwater. Standard operational procedure. 16p.

Creasel, 1996b. ALGALTOXKIT F™. Freshwater toxicity test with micro algae. Standard operational procedure. V110396, 29p.

CUWVO, 1996. Landelijke watersysteemrapportage 1994. 82 p.

Di Toro, D.M., Zarba, C.S., Hansen, D.J., Berry, W.J., Swartz, R.C., Cowan, C.E., Pavlou, S.P., Allen, H.E., Thomas, N.A. & Paquin, P.R., 1991. Technical basis for establishing sediment quality criteria for non ionic organic chemicals using equilibrium partitioning., *Env. Tox. Chem.*, Vol. 10, pp 1541-1583, 1991.

Elliott, J.M. & Tullett, P.A., 1978. A bibliograph of samplers for benthic invertebrates, Ambleside: Freshwater Biological Association. Occasional publication No. 4, 1978.p. 61.

Evaluatienota Water, 1994. Derde Nota Waterhuishouding, Regeringsbeslissing, Aanvullende beleidsmaatregelen en financiering 1994-1998. Nota 21 250, nrs. 27-28; 164 blz.

Geochem-Research, 1989. *Nutriënten en PCA's in natuurlijk Rijnwater*. Studie, uitgevoerd door Geochem-Research (RU Utrecht) in opdracht van DBW/RIZA. November 1989. In: Kalf *et al.*, 1995.

Gerven, B. van, 1995. De beestjes rukken op in het lab. Laboratorium Praktijk, januari 1995, blz. 11 t/m 13.

Gezondheidsraad, 1994. Gezondheidsraad: Commissie Ecotoxicologische vraagstukken. Ecotoxicologie op koers. Den Haag; publikatie nr. 1994/13.

Gezondheidsraad, 1995. Gezondheidsraad: Commissie Beoordeling carcinogeniteit van stoffen. Betekenis van mutageniteitstests. Den Haag, publikatie nr. 1995/20.

Grontmij, 1993a. Proefproject waterbodemsanering Sassenheimvaart. 1. Nader onderzoek. Hoofdrapport: 74 p.

Grontmij, 1993b. Proefproject waterbodemsanering Sassenheimvaart. 1. Nader onderzoek. Bijlagenrapport.

Grontmij, 1994a. Nader onderzoek waterbodem Lindbeek. 43 p.

Grontmij, 1994b. Nader onderzoek waterbodem Ur. 47 p.

Grontmij, 1994c. Nader onderzoek waterbodem Maasnielderbeek. 45 p.

Grootelaar, E.M.M., 1993. Morfologische deformaties bij Chironomiden als indicator voor de waterbodemkwaliteit, RWS RIZA, scriptie AOCE nr. 93-05, februari 1993, 41 p.

Guchte, C. van de & Maas-Diepeveen, J.L., 1987. Screening sediments for toxicity: a water-cocentration related problem. Paper presented at the 14th Annual Aquatic Toxicity Workshop, November 1-4, 1987, Toronto, Ontario, Canada.

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

Guchte, C. van de, 1991. De Triade: een methode voor de beoordeling van verontreinigde waterbodems. In: Biekart, J.W. & R. Leuven. Van vuile baggerspecie tot schoon slib. Waterbodemsanering: visies, onderzoek, oplossingen. Stichting Natuur en Milieu en Stichting Nederland Gifvrij, Utrecht. 320 blz.

Guchte, C. van de, 1992. The sediment quality triad: an integrated approach to assess contaminated sediments. In: River water quality. Ecological assessment and control. Eds: Newman, P.J., M.A. Piavaux, & R.A. Sweeting. Commission of the European Communities, Brussel, 425-431.

Håkanson, L. & Jansson, M., 1983. Principles of Lake Sedimentology. Springer Verlag, Berlin.

Hattum, A.G.M. van, 1995. Bioaccumulation of sediment-bound contaminants by the freshwater isopod *Asellus aquaticus* (L.). Academisch proefschrift, Vrije Universiteit, Amsterdam, 8 mei 1995.

Hill, I.R., Matthiessen, P. & Heimbach, F., 1993. Guidance document on sediment toxicity tests and bioassays for freshwater and marine environments". SETAC Workshop on sediment toxicity assessment. Renesse, November 1993.

Hudson, L.A. & Ciborowski, J.J.H., 1996. Teratogenic and genotoxic responses of larval *Chironomus salinarius* group (*Diptera: Chironomidae*) to contaminated sediment. Environmental Toxicology & Chemistry. Vol. 15, No. 8, pp. 1375-1381.

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, NO. 11, pp. 1885-1894.

International Joint Commission, 1988. Procedures for the assessment of contaminated sediment problems in the Great Lakes. International Joint Commission, Windsor Ontario, Canada, 78 pp.

Kalf, D.F., Crommentuijn, G.H., Posthumus, R. & van de Plassche, E.J., 1995. Integrated environmental quality objectives for polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs). RIVM rapport nr. 679101 018.

Kamps-Mulder, M.A.A.J., 1994. Concept. Evaluatie van ecologische risicobeoordeling in 12 Nader Onderzoeken van de Directie Gelderland. RIZA Werkdocument 94.177X, WSC-ectoxicologie nr.: 94-13.

Kooij, L.A. van der, Meent, D. van de, Leeuwen, C.J. van & Bruggeman, W.A., 1991. Deriving quality criteria for water and sediment from the results of aquatic toxicity tests and product standards: application of the equilibrium partitioning method. Wat. Res., Vol. 25, No. 6, pp. 697-705, 1991.

Kramers, P.G.N. & Heijden, C.A. van der, 1988. PAH: carcinogenicity data and risk extrapolations. Toxicol. Environ. Chem., 16, 341-351.

Leeuwen, C.J. van & Hermens, J.L.M. (eds.), 1995. Risk Assessment of Chemicals: An Introduction. Kluwer Academic Publishers, 1995.

Leonards, P.E.G., 1997. PCB's in mustelids. Analysis, food chain transfer and critical levels. Academisch proefschrift, Vrije Universiteit, 28 januari 1997.

Maas, J.L., 1995. Interne memo 'randvoorwaarden'. Rijksinstituut voor Integraal Zoetwaterbeheer en Afvalwaterbehandeling, RIZA, Lelystad. WSC Ecotoxicologie.

Maas, J.L., Guchte, C. van de & Kerkum, F.C.M., 1993. Methodebeschrijvingen voor de beoordeling van verontreinigde waterbodems volgens de Triade benadering. Methodebeschrijvingen voor enkele bioassays, bioaccumulatiemetingen en veldstudies. RIZA nota 93.027.

Maas, J.L., Naber, A. & Botterweg, J., 1994. Toxiciteit en mutageniteit van acht industriële effluënten voor zoetwaterorganismen. Vergelijking van de gevoeligheid van zoet- en zoutwaterorganismen. Werkdocument nr. 93.171X, Rijkswaterstaat RIZA, februari 1994.

Maas-Diepeveen, J.L. & Guchte, C. van de, 1990. Ecotoxicologische testen voor de beoordeling van verontreinigde waterbodems - Methodebeschrijvingen. RIZA Werkdocument nr.: 90.173X, Lelystad, november 1990.

Milbrink, G., 1983. An improved environmental index based on the relative abundance of oligochaete species. Hydrobiologia 102: 89-97.

Ministerie van Verkeer en Waterstaat, Ministerie van Volkshuisvesting, Ruimtelijke Ordening en Milieu en Ministerie van Landbouw, Natuurbeheer en Visserij, 1994. Evaluatienota Water. Regeringsbeslissing Aanvullende beleidsmaatregelen en financiering 1994-1998. Den Haag, Sdu Uitgeverij Plantijnstraat.

Ministerie van VROM, 1991. Notitie Milieukwaliteitsdoelstellingen Bodem en Water. Ministerie van Volkshuisvesting, Ruimtelijke Ordening en Milieu.

Ministerie van Volkshuisvesting, Ruimtelijke Ordening en Milieu, 1994. Environmental Quality Objectives and their policy framework in the Netherlands. 465 p.

Ministerie van VROM, 1994. Circulaire inwerkingtreding saneringsregeling wet bodembescherming Tweede fase. Ministerie van Volkshuisvesting, Ruimtelijke Ordening en Milieubeheer, Hoofddirectie Milieukwaliteit en Emmissiebeleid, Directie Bodem. December 1994. pp. 95.

Moller Pillot, H.K.M. & Buskens, R.F.M., 1990. De larven der Nederlandse *Chironomidae* (Diptera). Deel C: autoekologie en verspreiding. Ned. Faun. Meded. 1C, Leiden, 86 p.

Munawar, M. & Dave, G.(eds.), 1996. Development and Progress in Sediment Quality Assessment: Rationale, Challenges, Techniques & Strategies, SPB Academic Publishing, Amsterdam, pp. 93-100.

Murphy, S. R. & Balogh, J.C., 1993. DATATOX V2.0. Toxicity & Chemical fate, Personal computer system. Spectrum Research, Inc., Duluth, Minnesota, April 1993.

Naber, A. & Grootelaar, E.M.M., 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.

Neff, J.M., 1985. Polycyclic Aromatic Hydrocarbons. In: Rand, G.M. & Petrocelli, S.R. (eds.), Fundamentals of aquatic toxicology. Methods and applications. Hemisphere, New York, pp. 416-454.

Neff, J.M., 1979. Polycyclic Aromatic Hydrocarbons in the aquatic environment- Sources, Fates and Biological Effects. Applied Science Publishers LTD, London. In: Kalf *et al.*, 1995.

Nijhof, A.G., 1996. Risicobeoordeling bij bodemverontreiniging: inventarisatie van knelpunten en oplossingsrichtingen. Tauw Milieu BV, rapport nr. R3473503.RO2/AGN.

Noij, Th.H.M. & Meerkerk, M.A. (red.), 1995. Toxicologisch en ecologisch onderzoek van de Rijn in 1994 in relatie tot drinkwaterbereiding. In opdracht van de Samenwerkende Rijn- en Maaswaterleidingbedrijven RIWA, oktober 1995.

Norusis, M.J., 1992. SPSS® for Windows™. Base System User's Guide, Release 5.0. SPSS Inc. Chicago.

OECD 201, 1984. Alga, growth inhibition test. OECD guideline for testing of chemicals. OECD, Paris, France, 201 adopted 7.07.84.

Oranjewoud, 1992. Rapport. Nader onderzoek waterbodemsanering. Strekvaart blok I, II en III. : Project nr. 9929-31783.

Ouboter, S., Derks, L. & Edelman, Th., 1996. Communicatie over bodemverontreiniging. Gesprek tussen een deskundige, een psycholoog en een ambtenaar. Wageningen: Rapporten Programma Geïntegreerd Bodemonderzoek (Rapporten Programma Geïntegreerd Bodemonderzoek; deel 9), 23p.

- Pauw, N. de & Vannevel, R. (eds.), 1991 Macro-evertebraten en waterkwaliteit. Determineersleutels voor zoetwater macro-evertebraten en methoden ter bepaling van de waterkwaliteit. Dossier Stichting Leefmilieu i.s.m. Jeugdbond voor Natuurstudie en Milieubescherming. 1-316.
- Pelkonen, O. & Nebert, D.W., 1982. Metabolism of polycyclic aromatic hydrocarbons: etiologic role in carcinogenesis. *Pharmacol. Rev.* (34) no. 2, 189-222.
- Persoone, G., 1995. Unpublished limit values (24h LC₁₀) for "confounding factors" for microbiotest and conventional test species.
- Persoone, G., Goyvaerts, M., Janssen, C., Coen, W. de, & Vangheluwe, M., 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: 50 p.
- Persoone, G., Janssen, C., Coen, W. de, & Latif, M., 1994. Cyst-based toxicity tests XI: Comparison of the sensitivity of the acute *Daphnia magna* test and two crustacean microbiotests for chemicals and wastes. *Chemosphere*.
- Phipps, G.L., Ankley, G.T., Benoit, D.A. & Mattson, V.R., 1992. Use of the aquatic oligochaete *Lumbriculus variegatus* for assessing the toxicity and bioaccumulation of sediment-associated contaminants. *Environmental Toxicology & Chemistry*, Vol 12, No. 2, pp. 269-279.
- Poorter, L.R.M. de & Guchte, C. van de (red.), *in prep.* Verslag van de studiedag 'The art of bioassays in het waterbeheer'. Den Haag, 20 maart 1996.
- Poorter, L.R.M. de, Brils, J.M., Kerkum, F.C.M. & Guchte, C. van de, 1996. Reference abundance's of freshwater benthic fauna as a tool in sediment quality assessment. In Munawar, M. & G. Dave (eds.), 1996. Development and Progress in Sediment Quality Assessment: Rationale, Challenges, Techniques & Strategies, pp. 93-100.
- Provincie Zuid-Holland, Hoogheemraadschap van Delfland, Hoogheemraadschap van Rijnland, Hoogheemraadschap van Schieland & Zuiveringsschap Hollandse Eilanden en Waarden, 1995. Evaluatie Nader onderzoeken proefprojecten waterbodemsanering. De Zijl, Hooge Boezem van de Nederwaard, Sassenheimervaart, Strekvaart, Vijver prins Albertlaan, januari 1995.
- Reinhold-Dudok van Heel, E. & Besten, P.J. den, *in prep.* Macro-evertebraten in verschillende biotopen in het beneden-rivierengebied van de Rijn en de Maas. RIZA Nota 97.xxx, *in prep.*
- Rijn, J.P. van, Straalen, N.M. van & Willems, J., 1995. Handboek bestrijdingsmiddelen. Gebruik en milieu-effecten. VU Uitgeverij, Amsterdam: 670p.
- RMNO - Raad voor het Milieu- en Natuuronderzoek, 1996. Het water- en bodemonderzoek over de eeuwwisseling heen. Water en Bodem in Beeld II: een revisie van Water en Bodem in Beeld, 1991. Rapport aan de raad. RMNO nr. 122, Rijswijk, december 1996, 50p.
- Romijn, I. (red.), 1997. Verslag van de workshop "Geld in het water?! Onderzoek regionale waterbodemsanering". Hoogheemraadschap van Delfland, Hoogheemraadschap van Rijnland, Hoogheemraadschap van Schieland, Provincie Zuid-Holland & Zuiveringsschap Hollandse Eilanden en Waarden, 1995. Den Haag, 31 januari 1997.
- Rooij, N.M. de, Gerrits, H.J. & Heijdt, L.M. van der, 1996. De (regionale) baggerspecie-problematiek en het stoffenbeleid. Waterloopkundig Laboratorium.
- Scholten, M.C.Th., Schobben, H.P.M., Karman, C.C., Jak, R.G. & Groenewoud, H. van het, 1993. De berekening van het Maximaal Toelaatbare Risico niveau van olie en oliecomponenten in water en sediment. TNO rapport IMW-R 93/187, 58 p.

Scholten, M.C.Th, Kaag, N.H.B.M., Dokkum, H.P. van, Jak, R.G., Schobben H.P.M. & Slob, W., 1996. Toxische effecten van olie in het aquatische milieu. TNO rapport, TNO-MEP - R 96/230, 51 p.

Schot, M.E., Dubbeldam, M.C., Stronkhorst, J., Schout, P.G., Postma, J.F. & Vonck, A.P.M.A., 1997. Identificatie van de toxiciteit in poriewater van Nederlandse havensedimenten volgens de mariene TIE-methode met *Corophium volutator*, *Mysidopsis bahia*, *Psammechinus miliaris* en *Photobacterium phosphoreum*. RIKZ Werkdocument, RIKZ/AB-97.106X. Deel 1: Tekst, 102p.

Slooff, W., Bremmer, H.J., Hesse, J.M. & Matthijssen, A.J.C.M. (eds.), 1991. Basisdocument chloorbenzenen. Rapport nr. 710401005. Rijksinstituut voor Volksgezondheid en Milieuhygiëne, RIVM, Bilthoven, april 1991, 83 p.

Slooff, W., Janus, J.A., Matthijssen, A.J.C.M., Montizaan, G.K. & Ros, J.P.M., 1989. Integrated Criteria Document PAHs_RIVM, rapport nr. 758474011.

Smit, H., 1995. Macrozoobenthos in the enclosed Rhine-Meuse Delta. Proefschrift KUN, Nijmegen, 31 januari 1995, 192 pp.

Sokal, R.R. & Rohlf, F.J., 1981. Biometry. W.H. Freeman and Company, New York, 859pp.

Steenwijk, J.M. van, Bakker, T., Stortelder, P.B.M. & Guchte, C. van de, 1991. Voorlopige richtlijnen voor Nader onderzoek van verontreinigde waterbodems in de rijkswateren. RIZA nota 91.002.

Stortelder, P.B.M., Gaag, M.A. van der & Kooij, L.A. van der, 1989. Kansen voor waterorganismen. Een ecologische onderbouwing voor kwaliteitsdoelstellingen voor water en waterbodem. DBW/RIZA nota 89.016a.

STOWA - Stichting Toegepast Onderzoek Waterbeheer, 1996. Indicatieve analytische methoden en groeps- en somparameters voor de bepaling van de waterkwaliteit. Inventarisatie van bestaande technieken en correlatie-analyse 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.

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

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

Tauw infra Consult, 1992a. Rapport. Kwikverontreiniging waterbodem Twente, onderdeel: Nader onderzoek drie watergangen, OV/110/102/22.

Tauw infra Consult, 1992b. Bijlagen. Kwikverontreiniging waterbodem Twente, onderdeel: Nader onderzoek drie watergangen, OV/110/102/22.

Tauw infra Consult, 1992c. Eindrapport. Nader onderzoek vijver prins Albertlaan Voorburg.

Tauw infra Consult, 1993. Eindrapportage. Nader onderzoek waterbodem ringvaart Zuidplaspolder tussen Nieuwerkerk a/d IJssel en Zevenhuizen-Moerkapelle.

Tidepool, 1993. ToxCalc user's guide. Comprehensive toxicity data analysis and database software. Version 4.0 for microsoft Excel under Windows 3.1 or Apple Macintosh. Tidepool Scientific Software.

U.S. EPA - Environmental Protection Agency, 1992. Sediment Classification Methods Compendium.-EPA-823-R-92-006, Sediment Oversight Technical Committee, Washington, DC 20460.

- Urk, G. van & Kerkum, F.C.M., 1991. Biologische beoordeling van sedimentkwaliteit met *Chironomus* (Diptera: Chironomidae), RWS RIZA, Nota nr. 91.017.
- Vakgroep Toxicologie, Landbouwniversiteit Wageningen, 1991. Syllabus milieu- en industriële Toxicologie. Landbouwniversiteit Wageningen.
- Verdonschot, P.F.M., 1979. Aquatische oligochaeta, introductie. Rapporten en Verslagen 11: 1-45. Delta Instituut voor Hydrobiologisch Onderzoek, Yerseke.
- Verhaar, H.J.M., Leeuwen, C.J. van, Hermens, J.L.M., 1992. Classifying environmental pollutants. 1: Structure-activity relationships for prediction of aquatic toxicity. *Chemosphere*, 25, (4), 471-191.
- Vermeire, T.G., 1993. Voorstel voor de humaan-toxicologische onderbouwing van C-(toetsings)waarden. RIVM, rapport 715801001.
- Vermeire, T.G., Apeldoorn, M.E. van, Fouw, J.C. de & Janssen, P.J.C.M., 1991. Voorstel voor de humaan-toxicologische onderbouwing van C-(toetsings)waarden. RIVM, rapport 725201005.
- VROM, 1994. Concept-circulaire inwerkingtreding saneringsregeling Wet Bodembescherming. Ministerie van Volkshuisvesting, Ruimtelijke Ordening en Milieubeheer, Directoraat-Generaal Milieubeheer, 28 april 1994.
- Willemsen, A., Vaal, M.A., & Zwart, D. de, 1995. Microbiotests as tools for environmental monitoring. Rapport nr. 607042005. Rijksinstituut voor Volksgezondheid en Milieuhygiëne RIVM, Bilthoven: 39 p.
- Witteveen & Bos, 1993a. Eindrapportage Nader onderzoek Proefproject Hoge Boezem van de Nederwaard Kinderdijk.
- Witteveen & Bos, 1993b. Bijlagen Proefproject waterbodemsanering Hoge Boezem van de Nederwaard Kinderdijk.
- Zimmer, M., 1993. Erarbeitung von Kriterien zur Ableitung von Qualitätszielen für Sedimente und Schwebstoffe. Literaturstudie. Forschungsvorhaben 102 04 384/01. Technische Universität, Hamburg: 309 p.
- Zwart, D. de, 1994. Verslag Discussiebijeenkomst "kwantificering van actuele risico's voor ecosystemen bij bodemverontreiniging". De Bilt, 27-10-1993. RIVM rapport nr. 719102026, maart 1994

BIJLAGEN

Lijst van bijlagen

Bijlage 1. Resultaten toetsing toplaag regionale waterbodems	102
Bijlage 2. Benaderde instanties	103
Bijlage 3. Enquête	104
Bijlage 4. Resultaten enquêtes en interviews	105
Bijlage 5. Evaluatie van 10 Nader onderzoeken uitgevoerd in opdracht van waterbeheerders	106
Bijlage 6. Evaluatie van 5 proefprojecten Provincie Zuid-Holland	107
Bijlage 7. Monsternamen	109
Bijlage 8. Monsterverwerking	111
I. Behandeling monsters bij binnenkomst in laboratorium	111
II. Fysisch/chemische analyses	111
III. K_s -analyse	112
IV. Bereiding testmedia (poriewater of elutriaat)	113
V. Meten randvoorwaardenparameters	114
VI. Referenties	115
Bijlage 9. Karakterisering waterbodems	117
Bijlage 10. Acute bioassays (screeningstesten)	119
I. Acute algentest	120
II. Acute bacterietest	124
III. Acute Thamnotoxkit F-test	129
IV. Acute watervlooiëntest	133
V. Acute Rotoxkit F-test	137
Bijlage 11. Chronische bioassays	141
I. Chronische watervlooiëntest	142
II. Chronische muggelarventest	146
Bijlage 12. Bioaccumulatietest	151
I. Oligochaeten bioaccumulatietest	151
Bijlage 13. Veldinventarisatie	157
I. Totale dichtheid en aantal soorten chironomiden en oligochaeten	158
II. Kaakmisvormingen bij <i>Chironomus</i> -larven	165
Bijlage 14. Verhoging kosten-effectiviteit bioassays	169
I Bepaling optimale aantal replica's per testconcentratie ('power analyse')	169
II Selectie testconcentratie(s)	171
Bijlage 15. Gevoeligheid bioassays voor specifieke toxicanten	174
Bijlage 16. K_p -waarden	175
Bijlage 17. Afleiding van $L(E)C_{50}$ -waarden	176
Bijlage 18. Trefkans bioassays	177
Bijlage 19. Handleiding bij spreadsheet 'TREFKANS'	179
Bijlage 20. Trefkans in praktijkmonsters	184

Bijlage 1. Resultaten toetsing toplaag regionale waterbodems

Toplaag (0-20 cm) Bron: CUWVO, 1996. NB: alleen alles vanaf klasse 3 (> toetsingswaarde) weergegeven.

Stof(groep)	totaal (n-tot)	>toetsingswaarde (klasse 3) (n)	% van n-tot	>interventiewaarde (klasse 4) (n)	% van n-tot	>signalerings- waarde (n)	% van n-tot
Arseen	6162	0	0.0	80	1.3	10	0.2
Cadmium	6703	35	0.5	49	0.7	21	0.3
Chroom	6643	0	0.0	38	0.6	14	0.2
Koper	6786	433	6.4	128	1.9	32	0.5
Kwik	6590	294	4.5	17	0.3	11	0.2
Lood	6725	0	0.0	89	1.3	25	0.4
Nikkel	6543	568	8.7	45	0.7	47	0.7
Zink	6770	0	0.0	525	7.8	33	0.5
Som 10 PAK's	6843	911	13.3	162	2.4	-	-
Hexachloorbenzeen	4420	25	0.6	0	0.0	-	-
PCB-28	4854	60	1.2	0	0.0	-	-
PCB-52	4856	52	1.1	0	0.0	-	-
PCB-101	4941	82	1.7	0	0.0	-	-
PCB-118	4874	49	1.0	0	0.0	-	-
PCB-138	4939	117	2.4	0	0.0	-	-
PCB-153	4938	115	2.3	0	0.0	-	-
PCB-180	4941	73	1.5	0	0.0	-	-
Som 7 PCB's	4944	60	1.2	8	0.2	-	-
Som Aldrin/Dieldrin	4814	12	0.2	0	0.0	-	-
Endrin	4807	14	0.3	0	0.0	-	-
DDT (incl. DDD en DDE)	4756	772	16.2	0	0.0	-	-
alfa-Endosulfan/sulfaat	4763	39	0.8	0	0.0	-	-
alfa-HCH	4808	8	0.2	0	0.0	-	-
beta-HCH	4707	17	0.4	0	0.0	-	-
gamma-HCH	4726	15	0.3	0	0.0	-	-
Heptachloor & epoxide	4779	6	0.1	0	0.0	-	-
Som pesticiden	4829	195	4.0	0	0.0	-	-
Minerale olie IR	3826	80	2.1	51	1.3	-	-
Minerale olie GC	2832	29	1.0	24	0.8	-	-

Bijlage 2. Benaderde instanties

Instanties	benaderd via	
	enquête	interview
Waterkwaliteitsbeheerders		
Hoogheemraadschap Alm en Biesbosch en de waterschappen De Aa, De Dommel en De Maaskant	*	
Heemraadschap Fleverwaard	*	
Hoogheemraadschap van Delfland		*
Hoogheemraadschap van Rijnland		*
Hoogheemraadschap van Schieland		*
Hoogheemraadschap van Uitwaterende Sluizen in Hollands Noorderkwartier	*	
Hoogheemraadschap van West-Brabant	*	
Provincie Groningen	*	
Provincie Utrecht	*	
Waterschap De Drie Ambachten	*	
Waterschap Friesland	*	
Waterschap Regge en Dinkel	*	
Waterschap Zeeuwse Eilanden	*	
Zuiveringschap Amstel- en Gooiland	*	
Zuiveringsschap Drenthe	*	
Zuiveringsschap Hollandse Eilanden en Waarden	*	
Zuiveringschap Limburg	*	
Zuiveringsschap Oostelijk Gelderland	*	
Zuiveringsschap Rivierenland		*
Zuiveringsschap Veluwe	*	
Zuiveringschap West-Overijssel		*
subtotaal:	16	5
Overige instanties		
Provincie Zuid-Holland	*	
subtotaal:	1	0
totaal benaderd:	17	5

Bijlage 3. Enquête

Ingevuld door:

Instelling:

STOWA-onderzoeksproject:

Methode voor de ecotoxicologische risicobeoordeling van verontreinigde waterbodems in regionale wateren (thema 17)

Doel:

- Inventarisatie van ervaringen opgedaan door waterbeheerders met de ecotoxicologische risicobeoordeling van verontreinigde waterbodems
- Overzicht verkrijgen van wensen die waterbeheerders hebben t.a.v. een methode voor de ecotoxicologische risicobeoordeling van verontreinigde waterbodems

Vragenlijst:

1. Heeft u reeds ervaringen opgedaan op het gebied van de ecotoxicologische risicobeoordeling van verontreinigde waterbodems? ja/nee
(indien "nee", ga naar 3)
2. Welke methode heeft u daarbij gebruikt (Triade of andere)?
Wat zijn uw ervaringen en/of welke problemen kwam u tegen?
3. Zijn er van uw beheersgebied gegevens beschikbaar van de sedimentbewonende macrofaunasoorten? ja/nee
(indien "nee", ga naar 4)

Wijze van bemonstering:

handnet/happer

jaarlijks/halfjaarlijks/...X per jaar

sinds 19..

op locaties

Zijn - naast soortensamenstelling, abundantie e.d.- ook kaakafwijkingen bij muggelarven bepaald? ja/nee

(Ter informatie: de macrofaunagegevens zijn nodig voor het vaststellen en onderbouwen van referentiewaarden voor bodems van regionale wateren)

4. Aan welke criteria moet volgens u een bruikbare beoordelingsmethode voor verontreinigde waterbodems voldoen?
5. Kunt u ons relevante literatuur (rapporten e.d.) toesturen?

Wij danken u voor de genomen moeite.

Bijlage 4. Resultaten enquêtes en interviews

Ervaring met ecotox. beoordeling?	%	% cumulatief	frequentie	Omschrijving
ja	38.1	38.1	8	
gering	33.3	71.4	7	
geen	28.6	100.0	6	
			21	Totaal aantal respondenten (enquête + interview)

Criteria beoordelingsmethode?	%	% cumulatief	frequentie	Omschrijving
eenduidig	16.2	16.2	11	goed interpreteerbaar, relatie effect-gehalte specifieke stoffen
betrouwbaar	16.2	32.4	11	reproduceerbaar, robuust, niet storing gevoelig, moet werken
uitvoerbaar	13.2	45.6	9	eenvoudig, snel
kosten-effectief	11.8	57.4	8	goedkoop, verantwoord qua kosten
gevoelig	10.3	67.6	7	stof-, en/of stofgroepspecifiek
gestandaardiseerd	5.9	73.5	4	richtlijn en/of norm beschikbaar
relatie effect-veld	4.4	77.9	3	relatie effect-veldinventarisatie, effect moet iets zeggen over risico ecosysteem
breed toepasbaar	4.4	85.3	3	niet gevoelig voor "omgevings"omstandigheden, toepasbaar voor grote verontreinigingsrange
meerwaarde	2.9	80.9	2	toegevoegde waarde op chemie
wettelijk kader	2.9	88.2	2	aansluiten bij (landelijke) normen
criteria goed/slecht	2.9	91.2	2	wanneer risico, wanneer niet: onderbouwing van grenzen
zouttolerant	1.5	92.6	1	bruikbaar onder wisselende zoutcondities (estuaria)
kwantitatief	1.5	94.1	1	er moet een "hard" getal uitkomen (cf. chemie)
vervanging	1.5	95.6	1	ter vervanging van bijvb. chemische analyse
soorten uit gebied	1.5	97.1	1	liefst gebruik maken van soorten die ook in gebied voorkomen
criteria welke test	1.5	98.5	1	het moet duidelijk zijn wanneer welke techniek gebruikt kan/moet worden
onderscheidend vermogen	1.5	100.0	1	gevoelig voor kleine veranderingen
totaal:	100.0		68	

Toegepaste technieken?	%	% cumulatief	frequentie	Component
veldinventarisatie macrofauna	20.9	20.9	9	Veldinventarisatie
kaakmisvormingen Chironomus	18.6	39.5	8	Veldinventarisatie
Photobacterium phosphoreum (30 min)	14.0	53.5	6	Bioassays
Daphnia magna (> 14 d)	11.6	65.1	5	Bioassays
Chironomus riparius (28 d)	11.6	76.7	5	Bioassays
bioaccumulatie vis (passief)	9.3	86.0	4	Bioassays
glossa-misvormingen Procladius	4.7	90.7	2	Bioassays
Daphnia magna veldtest (1 week)	2.3	93.0	1	Bioassays
Rotokit F	2.3	95.3	1	Bioassays
Thamnotoxkit F	2.3	97.7	1	Bioassays
Corophium volutator (zout)	2.3	100.0	1	Bioassays
totaal:	100		43	

De cursieve locaties werden reeds eerder geëvalueerd door de Provincie Zuid-Holland (* = uitgevoerd, (*) = bevat elementen van).

Beheerder		Locatie	In vooronderzoek andere componenten dan C meegenomen	Toegepaste beoordelingscomponenten (zie 2.1.2, tabel 1)							Beoordeling			Beoordeelde			Gebiedsreferentie t.b.v. bioassays meegenomen	Referentie					
				B. Bioassays			V. Veldinv.	C. Chemie			(zie 2.2 en 2.3)			(sub)locaties									
				<i>Bacterie</i> (30 min)	<i>Daphnia magna</i> (> 14 d)	<i>Chironomus riparius</i> (28 d)		Veldioassay <i>Daphnia magna</i> (7 d)	Bioaccumulatie-onderzoek	Dichtheden en soorten bodemorganismen	Misvormingen bij muggelarven	Sediment toplaag (0 - maximaal ca. 50 cm)	Sediment diepere lagen (ondergrond)	Oever / talud / grond	Grondwater (via peilbuizen)	Poriewater			Volgens Triade-methode	HC50-waarde benadering	Modelmatige benadering	# ecotoxicologisch beoordeeld	# beoordeeld o.b.v. chemie toplaag
HH van Delfland		Vijver Prins Albertlaan, Voorburg			*				*	*	*	*	*				(*)	2	6	33	*	TAUW, 1992c	
HH van Rijnland		Sassenheimervaart			*	*	*	*		*	*	*	*	*		*		6	49	12	*	Grontmij, 1993a,b	
HH van Schieland		Strekvaart			*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*		2	19	11		Oranjewoud, 1992	
HH van Schieland		Zuidplaspolder			*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*		2	42	5		TAUW, 1993	
Prov. Zuid-Holland		De Zijl		*		*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*		8	41	20		BKH, 1992, 1993	
WS Regge en Dinkel		Hengelse beken			*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*		3	22	14		TAUW, 1992a,b	
ZS Holl. Eil. en Waarden		Hooge Boezem Nederwaard			*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*		3	25	12		Witteveen & Bos, 1993a,b	
ZS Limburg		Lindbeek		*		*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*		3	9	33		Grontmij, 1994a	
ZS Limburg		Ur		*		*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*		3	28	11		Grontmij, 1994b	
ZS Limburg		Maasnielderbeek		*		*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*		2	12	17		Grontmij, 1994c	
frequentie:		0	0	4	5	5	1	4	7	7	10	9	7	9	3	8	2	2	34	253	2		
percentage:		0	0	40	50	50	10	40	70	70	100	90	70	90	30	80	20	20		13	20		

Bijlage 6. Evaluatie van 5 proefprojecten Provincie Zuid-Holland

De ervaringen die door Zuidhollandse waterkwaliteitsbeheerders en de provincie zijn opgedaan in 5 Nader onderzoeken zijn gezamenlijk geëvalueerd en beschreven in een evaluatierapport (Provincie Zuid-Holland *et al.*, 1995). De bevindingen hierin ten aanzien van het onderdeel ecotoxicologische risicobeoordeling zijn:

Wat betreft de uitvoering:

- Het is onduidelijk hoe, en lastig om de lokale achtergrondwaarde (referentielocatie) te bepalen. Wanneer geen geschikte lokale referentielocatie kan worden gevonden, dan wordt aanbevolen om (bestaande) gegevens over de locaties uit de buurt, eventueel aangevuld met analyses van aansluitende wateren, te combineren om de lokale achtergrondwaarde vast te stellen;
- De lokale situatie is bepalend of er ook onderzoek aan poriewater of oppervlaktewater moet worden uitgevoerd en of het uitlooggedrag (met schudproeven) moet worden bestudeerd. Analyse van het poriewater kan inzicht verschaffen in de mate waarin verontreinigingen (potentieel) beschikbaar zijn of (potentieel) verspreidingsrisico inhouden. Deze analyses kunnen nuttig zijn als aanvulling op de bioassays met *Photobacterium phosphoreum* en *Daphnia magna* omdat deze worden uitgevoerd op poriewater.

In geval van verontreiniging met zware metalen kunnen uitloogproeven inzicht verschaffen in de mate waarin metalen zijn gebonden aan het slib (dit zegt iets over de potentiële biologische beschikbaarheid).

Wat betreft de analyse van oppervlaktewater wordt opgemerkt dat dit slechts een momentopname geeft van de waterkwaliteit;

- Door de beperking van het aantal chemisch onderzochte stoffen, en het ontbreken van kennis over aanvaardbaar geachte concentraties voor het bodemleven, kan vaak geen goede inschatting worden gemaakt van het effect van de waterbodem op de organismen. Het is daarom van belang om, naast de chemische analyses, de biologische beschikbaarheid van mengsels van stoffen uit die bodems op organismen te onderzoeken. Biologische onderzoeken maken daarom een essentieel deel uit van het Nader onderzoek;
- Bioassays en veldinventarisaties dienen uitgevoerd te worden volgens het Triade-protocol (Maas *et al.*, 1993). Voor de bemonstering van macrofauna dient derhalve gebruik te worden gemaakt van een bodemhapper en niet van een handnet;
- De bioassays met *Daphnia magna* en *Chironomus riparius* zijn net zo goed toepasbaar voor regionale wateren als voor rijkswateren;
- Het uitvoeren van de veldbioassay met *Daphnia magna* is alleen zinvol als er een duidelijk verband is tussen de kwaliteit van het oppervlaktewater en de kwaliteit van de waterbodem of het poriewater;
- Bioaccumulatie-onderzoek dient breed van opzet te zijn: meerdere individuen per soort, meerdere soorten en hetzelfde onderzoek op een referentiepunt. Gegevens van 1 individu en soort is, gezien het verschil in gehalten dat zich voor kan doen, te weinig om betrouwbare uitspraken te doen;
- Voor bioaccumulatie-onderzoek van zware metalen kunnen het beste mosselen worden gebruikt en voor organochloorverbindingen vissen;
- Eenvoudige en snelle testen (zoals bijvoorbeeld de bioassay met *Photobacterium phosphoreum*) kunnen worden ingezet als eerste screening indien sterke effecten (zeer ernstige verontreiniging) worden verwacht. Deze testen mogen echter nooit alleen worden gebruikt om een risico-analyse te onderbouwen. De bioassays met *Daphnia magna* en *Chironomus riparius* blijven hiervoor noodzakelijk;
- Voor alle biologische onderzoeken geldt dat er voldoende sublocaties ook een referentie moet worden onderzocht. Uit kosten oogpunt is het aantal testen per locatie vaak beperkt. Door dit beperkte aantal is de kans echter groter dat door experimentele fouten en onzekerheden de interpretatie moeilijk of in het geheel niet mogelijk is. Aanbevolen wordt om, ondanks de hoge

kosten, de in het Triade-protocol aanbevolen aantal testen per locatie aan te houden. De kwaliteit van het onderzoek is namelijk belangrijker dan de kosten;

Wat betreft de interpretatie:

- Het was in deze Nader onderzoeken doorgaans niet mogelijk om met behulp van de bioassays en veldinventarisatie causale verbanden tussen verontreiniging en effect aannemelijk te maken;
- Klasse 3 en 4 sedimenten op basis van PAK's (16 EPA) of PCB (standaard 7) hadden in deze onderzoeken weinig aantoonbaar effect in de bioassays met muggelarven en watervlooien;
- Voor het interpreteren van de resultaten van veldinventarisaties (o.a. dichtheden muggelarven) van slib/klei-, zand- of veenbodems kan gebruik worden gemaakt van de normaalwaarden uit het rapport "Biologische typologie zoete waterbodems" (AquaSense, 1993);
- Bioaccumulatieonderzoek aan vissen is zinvol om de ecotoxicologische risico's voor vissen en de humane risico's van visconsumptie in te kunnen schatten;
- Omdat bioaccumulatieonderzoek direct kan worden gericht op stoffen die ook in de waterbodem voorkomen, was het in deze onderzoeken mogelijk om causale verbanden aannemelijk te maken;
- Voor de interpretatie van biologische onderzoeken is (althans op dit moment nog) zeer specialistische kennis nodig. Derhalve wordt aanbevolen om de voorbereiding, uitvoering en interpretatie uit te besteden aan een daarin gespecialiseerde adviseur;
- Voor de diagnose van waterbodems is de Triade-methode een belangrijk hulpmiddel. De Triade-methode is een eenvoudig systeem waarmee op eenduidige wijze de saneringsurgentie van verontreinigde waterbodems vastgesteld kan worden.
- De resultaten van biologisch onderzoek zijn (mede) belangrijk voor het vaststellen van deze saneringsurgentie;
- Aanvullend onderzoek kan nodig zijn om inzicht te verkrijgen in oorzaak-gevolg relaties. Dit is bijvoorbeeld het geval als er een minder ernstige, of geen (voor zover geanalyseerde of meetbare) verontreiniging aanwezig is, maar toch ernstige of afwijkende effecten worden waargenomen in de bioassays of veldinventarisaties;
- De Triade-methode is ontwikkeld voor rijkswateren maar, eventueel na aanpassing van de criteria voor de veldinventarisaties, ook toepasbaar voor de meestal kleinere, regionale wateren.

Bijlage 7. Monstername

De procedure voor monstername¹ is beschreven in de “methodebeschrijving voor de beoordeling van verontreinigde waterbodems volgens de Triade-benadering” (Maas *et al.*, 1993). Ook in de “Guidance document on sediment toxicity tests and bioassays for freshwater and marine environments” (Hill *et al.*, 1993) wordt hieraan aandacht besteed. Hierna volgt een beknopte beschrijving van deze procedure. De nadruk bij de beschrijving ligt hierbij op zaken die afwijken of niet aan bod komen in de Triade-methodebeschrijving.

Bodemhapper:

Met een geschikte bodemhapper (zie Maas *et al.*, 1993: bijlage 7 en Elliott & Tullett, 1978) worden monsters genomen van de bovenste 10 tot 15 cm van de waterbodem. Voor bodems met een slappe structuur kan bijvoorbeeld de Ekman-Birge-happer worden gebruikt, waarbij iedere hap overeenkomt met een bemonsterd oppervlak van 0,0225 m². Bij de bemonstering wordt ernaar gestreefd om per locatie zoveel mogelijk vergelijkbaar bodemmateriaal te bemonsteren.

Lokale referentielocatie:

Om de onderzoeksresultaten te kunnen interpreteren is het nodig om simultaan ook een *lokale referentielocatie* te bemonsteren en vervolgens op dezelfde wijze te beoordelen als de monsters van de verontreinigde locaties. Een ideale referentielocatie is exact vergelijkbaar met de verontreinigde locatie, alleen de mate van verontreiniging is beduidend lager en bijvoorkeur klasse 0 of 1 (zie 2.1.2, 4.2.1 en 7.1.3).

Bioassays en bioaccumulatietesten:

Per locatie worden vijf kunststof emmers van ieder 10 liter (totaal 50 l) volledig afgevuld en daarna afgesloten. Hierbij wordt voor de bioassays uitgegaan van het beoordelen van een volledige verdunningsreeks poriewater (zie bijlage 10 en 11).

Fysisch/chemische analyse:

Voor een goede interpretatie van de testresultaten is het essentieel dat de chemische analyses en bioassays worden uitgevoerd op hetzelfde monster (Brils en den Besten, 1995). Per locatie wordt derhalve telkens een mengmonster samengesteld uit het ‘bioassay’-monster. Hiermee worden 2 (1 voor verdere analyse en 1 als reserve) donkere glazen potten van 1 liter volledig afgevuld en daarna direct afgesloten.

K_s-analyse:

Per locatie worden twee steekbuismonsters (duplo) van 10 cm lengte en 5,4 cm diameter genomen uit één bodemhap. Daarna zijn twee opties mogelijk:

1. De steekbuizen worden aan de boven- en onderzijde afgesloten en met de bovenzijde naar boven vervoerd naar het laboratorium;
OF:
2. In het veld wordt het profiel direct in plakjes van ieder 1 cm gesneden en per plakje apart overgebracht in van te voren gewogen monsterpotjes. De potjes worden daarna direct afgesloten.

Macrofauna-analyse:

Per locatie worden telkens 5 bodemhappen genomen. Daarna zijn twee opties mogelijk:

¹ Bij het nemen van monsters is het belangrijk om te realiseren dat *iedere* methode een bepaalde mate van verstoring van de originele fysische en chemische structuur van het sediment met zich meebrengt. Een beïnvloeding hierdoor van de bioassayresultaten kan derhalve nooit worden uitgesloten. Verstoring dient echter, voor zover mogelijk, tot een minimum te worden beperkt (Hill *et al.*, 1993).

1. Per locatie worden telkens 5 bodemhappen genomen en per hap in een afzonderlijke emmer overgebracht;

OF:

2. De 5 'macrofauna'-emmers worden per emmer apart, in het veld over een 500 µm zeef uitgespoeld en alles > 500 µm wordt overgebracht in een plastic monsterpotje (dus 5 potjes per locatie). Alvorens de potjes af te sluiten, worden de monsters geconserveerd door toevoeging van formaline (eindconcentratie: ca. 5 volume %).

NB:

In het 'Vooronderzoek Landelijke Monitoring' is uitgezocht dat voor een betrouwbare bemonstering van slakken en mosselen het beste 100 steekbuizen met een diameter van 6 cm (totaal oppervlakte 0,28 m²) zouden moeten worden genomen. Voor muggenlarven en oligochaeten zouden 50 steekbuizen (0,14 m²) moeten worden genomen (mondelinge mededeling E. Reinhold, RIZA in AquaSense, 1997).

Transport en opslag:

Alle monsters worden direct na het bemonsteren getransporteerd naar het laboratorium alwaar ze tot verder gebruik, gekoeld en donker worden opgeslagen².

² Hierbij is het belangrijk om te realiseren dat *iedere* opslagmethode een bepaalde mate van verstoring van het monster met zich meebrengt (Hill *et al.*, 1993).

Bijlage 8. Monsterverwerking

De procedure voor monsterverwerking is beschreven in de “methodebeschrijving voor de beoordeling van verontreinigde waterbodems volgens de Triade-benadering” (Maas *et al.*, 1993). Ook in de “Guidance document on sediment toxicity tests and bioassays for freshwater and marine environments” (Hill *et al.*, 1993) wordt hieraan aandacht besteed. Een beknopte beschrijving van deze procedures volgt in de volgende paragrafen:

- I. Behandeling monsters bij binnenkomst in laboratorium;
- II. Fysisch/chemische analyses;
- III. K_s -analyse;
- IV. Bereiding testmedia (poriewater of elutriaat);
- V. Meten randvoorwaardenparameters.

De nadruk bij de beschrijving ligt hierbij op zaken die afwijken of niet aan bod komen in de Triade-methodebeschrijving.

I. Behandeling monsters bij binnenkomst in laboratorium

De volgende handelingen dienen z.s.m. na aankomst van de monsters in het laboratorium te worden uitgevoerd:

- Per locatie worden de 5 ‘bioassay’-emmers bij elkaar gevoegd, mechanisch gehomogeniseerd en wederom verdeeld over de 5 emmers. De monsters worden tot gebruik gekoeld en donker opgeslagen. Het bovenstaande water wordt niet afgeschonken;
- De 5 ‘macrofauna’-emmers worden per emmer apart, over een 500 μm zeef uitgespoeld en alles $> 500 \mu\text{m}$ wordt overgebracht in een plastic monsterpotje (dus 5 potjes per locatie). Alvorens de potjes af te sluiten, worden de monsters geconserveerd door toevoeging van formaline (eindconcentratie: ca. 5 volume %). De monsters worden tot verdere verwerking gekoeld en donker opgeslagen;
- Fysisch/chemische analyse van de chemiemonsters door een Sterlab-gecertificeerd laboratorium. In paragraaf II worden aanbevelingen gedaan t.a.v. de specifiek te analyseren parameters;
- K_s -analyse: de achtergrond en procedure hiervoor wordt in paragraaf III verder toegelicht;

II. Fysisch/chemische-analyses

Karakterisering:

Ten behoeve van de karakterisering van de waterbodems (zie bijlage 9) is het minimaal nodig om de volgende parameters te (laten) analyseren:

- % Droge stof (DS) (mede ter bepaling van het vochtgehalte, zie bijlage 9);
- Korrelgroottefracties (% van DS) < 16 (lutum), < 63 (slib) en $> 210 \mu\text{m}$ (grof zand);
- Organische (kool)stof.

Organisch koolstof dient bij voorkeur te worden bepaald als de fractie elementair koolstof. Bepaling van organische stofgehalte via de IB-methode heeft de minste voorkeur. Berekening van het organisch koolstofgehalte op basis van het organische stofgehalte, via gloeirest bepaald (600 $^{\circ}\text{C}$), is echter ook acceptabel. De formule hiervoor is:

$$\% \text{ organisch koolstof} = \frac{\% \text{ organische stof}}{1,70}$$

Aldus berekend heeft de standaardbodem met 10 % organische stof een organisch koolstofgehalte van 5,88% en dus een fractie (percentage / 100) van 0,0588.

Verder verdient het aanbeveling om ook calciumcarbonaat, totaal fosfaat, korrelgroottefracties < 2 en < 210 µm, pH-grond en Kjeldahl-stikstof te analyseren.

Bepaling verontreinigingsgraad:

De verontreinigingsgraad van de waterbodems wordt bepaald door de chemische analyseresultaten met behulp van LAWABO te toetsen aan de Evaluatienota Water (ENW)-normen (Ministerie van Verkeer en Waterstaat, 1994). Naast de genoemde karakteriseringsparameters wordt aanbevolen om hiervoor het volgende pakket te (laten) analyseren (den Besten *et al.*, 1995):

- 8 Zware metalen (cadmium, chroom, koper, nikkel, lood, zink, arseen en kwik);
- 10 PAK's (naftaleen, benzo(a)anthraceen, benzo(ghi)peryleen, benzo(a)pyreen, fenantreen, indeno(1,2,3)pyreen, anthraceen, benzo(k)fluorantheen, chryseen, fluorantheen);
- 7 PCB's (PCB-28, -52, -101, -118, -138, -153 en -180);
- Bestrijdingsmiddelen (aldrin, dieldrin, endrin, p,p'- en o,p'-DDT, o,p'- en p,p'-DDE, o,p'- en p,p'-DDD, alfa-, beta- en gamma-HCH, alfa-endosulfan en -sulfaat, heptachloor en -epoxide, hexachloorbutadiën, hexachloorbenzeen, pentachloorbenzeen);
- Minerale olie.

III. **K_s-analyse**

NB: K_s-analyse is alleen van toepassing voor slibhoudende sedimenten (zie bijlage 9)

Achtergrond (AquaSense, 1993):

Het gemiddelde watergehalte van het sediment kan van locatie tot locatie (horizontaal) sterk verschillen. Op plaatsen waar het sediment meer grof (korrelgroottefractie > 63 µm) dan fijn materiaal (< 63 µm) bevat is het percentage water in het sediment lager dan andersom. Ook in verticale richting kunnen verschillen in waterpercentages worden waargenomen. De verticale variatie hangt hoofdzakelijk af van de sedimentatie (nu en in het verleden), de kwaliteit en kwantiteit van het gesedimenteerde materiaal en de mate van compactie. De verticale verdeling van het waterpercentage kan worden beschreven als functie van de diepte met de volgende formule:

$$W_{(x)} = W_{(0-1)} + K_s * \ln(2x) \quad (\text{Håkanson and Jansson, 1983})$$

waarin:

- x : de gemiddelde diepte van het sedimentplakje (cm);
W_(x) : het watergehalte op diepte x (% van natgewicht);
W₍₀₋₁₎ : het watergehalte in het bovenste laagje (0-1 cm) (%);
K_s : een bodemconstante.

De bodemconstante K_s is afhankelijk van de bodemdynamiek. Hoe groter de verticale gradiënt, hoe groter de K_s-waarde. Deze gradiënt wordt door factoren als erosie, transport en accumulatie

bepaald. Ook chemische en biologische karakteristieken zullen van invloed zijn. Hierdoor zal de K_s -waarde verschillen van locatie tot locatie. Sedimenten die erg "los" zijn zullen veel water bevatten en een lage graad van compactie bezitten. De gradiënt is daardoor klein en de absolute K_s -waarde laag. Bodems met een lage absolute K_s -waarde (< 1) zullen vanwege hun lage graad van compactie minder geschikt zijn als habitat voor bodem bewonende organismen. Bij een hoog watergehalte (ca. 80%) in de bovenste 5 à 6 cm van de bodem en een geleidelijke toename van korrelgrootte en graad van compactie, zoals in slibbodems, kan het watergehalte op 8 tot 10 cm beduidend lager zijn (ca. 40%). Dit soort bodems heeft een duidelijk hogere absolute K_s -waarde (waarde > 1) en zullen vanwege hun compacte structuur beter geschikt zijn als habitat.

Wanneer het verband tussen watergehalte en diepte zwak is, resulteert dit in een lage correlatiecoëfficiënt (r^2). Wanneer deze correlatie niet significant is op het 90% niveau ($p < 0,10$), dan kan dit betekenen dat de locatie gelegen is in een transport en/of erosie zone en dus minder geschikt is als habitat voor chironomiden. De relatie tussen t (Student's t), r en n (aantal monsters) wordt beschreven in de volgende formule:

$$t = r * \sqrt{(n-2) / (1-r^2)}$$

Wanneer t kleiner is dan de tabelwaarde in de Student's t tabel (éénzijdige hypothese en $n-2$ vrijheidsgraden), dan is de correlatie niet significant.

Procedure:

Het 10-cm steekbuisprofiel wordt in plakjes van ieder 1 cm gesneden en per plakje apart overgebracht in van te voren gewogen monsterpotjes. De monsters worden daarna nat gewogen en vervolgens in een stoof bij 80 °C gedurende minimaal 36 uur gedroogd en weer gewogen. Op basis van deze gegevens kan het watergehalte $W_{(x)}$ (uitgedrukt als % van het natgewicht) per plakje worden berekend met de volgende formule:

$$W_{(x)} = (\text{nat sediment} - \text{droog sediment}) / \text{nat sediment} * 100\%$$

Met behulp van lineaire regressie wordt daarna per profiel het verband tussen $W_{(x)}$ voor alle cm-laagjes en de waarde $\ln(2x)$ bepaald, waaruit de waarde voor de helling K_s volgt.

IV. Bereiding testmedia (poriewater of elutriaat)

Poriewater:

Voor het kunnen uitvoeren van enkele bioassays (zie bijlage 10 en 11) is een waterig testmedium nodig. Dit kan uit sediment worden geëxtraheerd³ door middel van centrifugeren of uitpersen (hoge druk filtratie). Het op deze manier gewonnen medium heet poriewater en kan na filtratie over 0.45 µm worden gebruikt in bioassays (zie Maas *et al.*, 1993).

Indien gekoeld en donker bewaard kan het poriewater maximaal 1 week worden bewaard. Bij voorkeur wordt poriewater echter zo spoedig mogelijk na winning getest met bioassays. Het poriewater voor de acute bacterietest (zie bijlage 10-II) dient direct na winning te worden getest.

³ Hierbij is het belangrijk om te realiseren dat extractie de fysisch/chemische karakteristieken van poriewater kan veranderen. Verandering van de redox-condities kan bijvoorbeeld leiden tot toxische concentraties ammonium en/of waterstofsulfide (Hill *et al.*, 1993).

Poriewatertesten zijn in het algemeen goed bruikbaar voor het beoordelen van verontreinigde sedimenten omdat aangenomen wordt dat organismen in het sediment via het poriewater aan toxische stoffen worden blootgesteld (Brils en den Besten, 1995). Bovendien laten poriewatertesten vaak effecten zien die even hoog of meestal zelfs nog hoger zijn dan testen met dezelfde organismen in sediment/watersystemen (zie bijlage 11-II). Voor een snelle, kosten-effectieve screening zijn poriewatertesten derhalve afdoende (van de Guchte & Maas-Diepeveen, 1987).

Elutriaat:

Indien via het centrifugeren of uitpersen onvoldoende medium kan worden gewonnen (dit kan het geval zijn bij zandige sedimenten), dan wordt aanbevolen om 1 volumedeel sediment met 4 volumedelen Dutch Standard Water (DSW)⁴ gedurende 24 uur op een schudmachine te mengen. Daarna wordt door middel van centrifugeren of uitpersen water gewonnen. Het aldus verkregen medium heet elutriaat en kan na filtratie over 0.45 µm worden gebruikt in bioassays.

Deze procedure wordt ook gevolgd voor het winnen van elutriaat ten behoeve van de chronische muggelarventest (zie bijlage 11-II).

V. Meten randvoorwaardenparameters

Vlak voor het inzetten van de lab-bioassays (acuut, chronisch en bioaccumulatietest) worden in het onverdunde (100 volume%) poriewater of elutriaat, of in het bovenstaande water van sediment/watersystemen, de volgende fysische en chemische parameters semi-kwantitatief gemeten:

- Zuurstofgehalte: met gecombineerde zuurstof- en temperatuur-electrode;
- Zuurgraad: met pH-meter;
- Nitrietgehalte: met Merck-testkit;
- Ammoniumgehalte: met Merck-testkit (hiervan wordt het ammoniakgehalte afgeleid, rekening houdend met de hoogte van pH en temperatuur: zie bijlage 1 in Maas *et al.*, 1993);
- Geleidbaarheid of chloridegehalte: met respectievelijk geleidbaarheidsmeter of Merck-testkit;
- Temperatuur: met gecombineerde zuurstof- en temperatuur-electrode en/of min-max-thermometer.

Deze parameters worden gemeten in een van de replica's van de monsters (inclusief referentie) en het blancotestmedium. In de chronische lab-bioassays en in de bioaccumulatietest worden deze parameters ook op enkele momenten (minimaal 1 x per week) gedurende de test gemeten. De temperatuur dient voortdurend te worden gemonitord (min-max-thermometer). Indien het testmedium wordt verversd, dan wordt zowel in het te verversen medium (vlak voor verversen) als in het verse medium gemeten.

Voor deze fysische en chemische parameters zijn door het RIZA criteria (randvoorwaarden genaamd) opgesteld waaraan het poriewater, elutriaat of het bovenstaande water in een sediment/watersysteem moet voldoen om geschikt te zijn als testmedium. Deze randvoorwaarden zijn voor ieder testorganisme anders (zie bijlage 10, 11 en 12). Bij overschrijding van de gestelde randvoorwaarde voor één of meerdere van deze abiotische parameters, kan beïnvloeding van het testresultaat worden verwacht. Voor sommige van deze parameters is een bijstelling mogelijk (zie Maas *et al.*, 1993).

⁴ Dutch Standard Water (DSW) is gedemineraliseerd water waaraan enkele zouten zijn toegevoegd. Zie Maas *et al.* (1993) voor de exacte samenstelling en bereiding van dit gestandaardiseerde zoetwatermedium.

Indien een of meerdere randvoorwaarden in het onverdunde poriewater of elutriaat worden overschreden, dan worden de betreffende parameters ook in de eerst volgende verdunningsstap gemeten (en indien nodig in de stappen daarna). Indien de randvoorwaarden vanaf deze stap wel voldoen, dan worden de testresultaten beoordeeld vanaf deze verdunningsstap. Eventuele negatieve testresultaten in het onverdunde monster kunnen immers niet meer uitsluitend worden toegeschreven aan toxicanten.

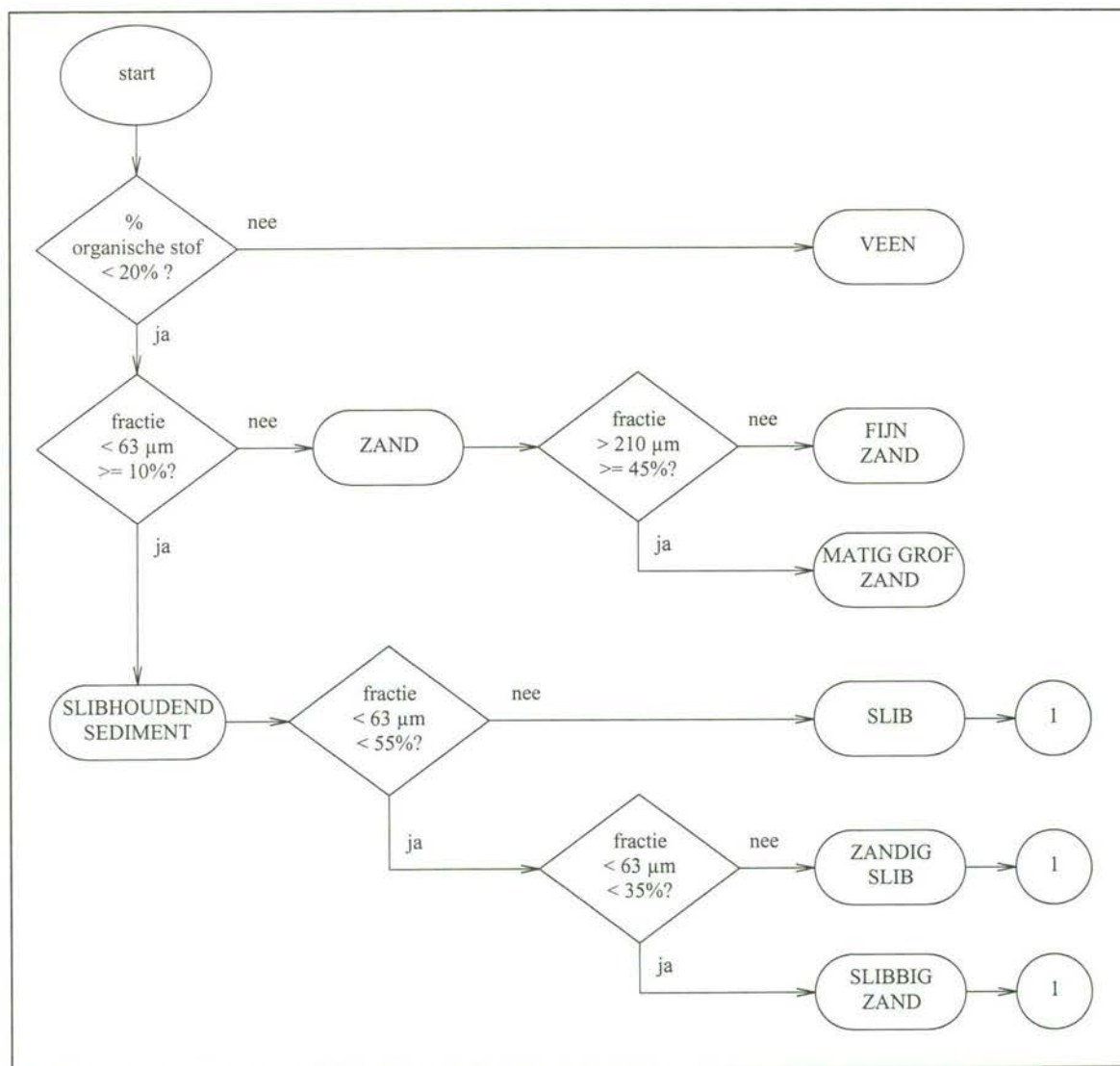
VI. Referenties

(zie de literatuurlijst voor de volledige referenties)

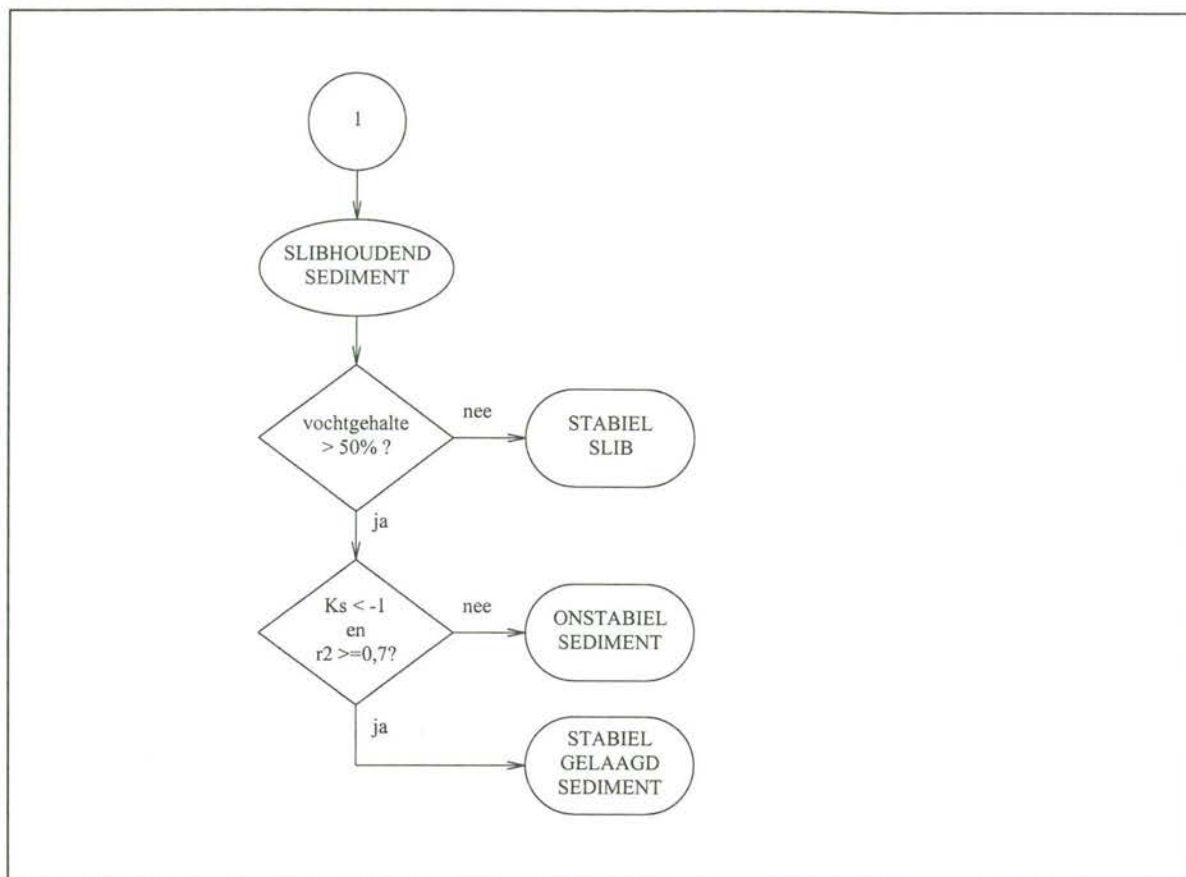
Aquasense, 1993, 1997; Brils en den Besten, 1995; Håkanson and Jansson, 1983; Hill *et al.*, 1993; Maas *et al.*, 1993; Ministerie van Verkeer en Waterstaat, 1994.

Bijlage 9. Karakterisering waterbodems

Waterbodems (sedimenten) kunnen worden gekarakteriseerd volgens de methodiek zoals weergegeven in figuur a. De slibhoudende sedimenten kunnen vervolgens verder worden gekarakteriseerd volgens de methodiek zoals weergegeven in figuur b. Deze wijze van sedimentkarakterisering (figuur a en b) wordt voorgesteld door het RIZA (zie AquaSense, 1997) en is gebaseerd op de indeling zoals gehanteerd in het project "Biologische Typologie Zoete Waterbodems (Typosed)" (AquaSense, 1993). Deze Typosed-indeling is gemodificeerd op basis van een studie van de macrofaunalevens-gemeenschappen van ca. 300 locaties (Reinhold-Dudok van Heel & den Besten, *in prep.*).



Figuur a Sedimentkarakterisering volgens voorstel RIZA (①: zie figuur b).



Figuur b Nadere karakterisering slibhoudende sedimenten volgens voorstel RIZA (①: zie figuur a).

NB: Vochtgehalte = gemiddeld vochtgehalte van het complete bodemmonsters. Dit gehalte kan worden bepaald op basis van het bepaalde droge stofgehalte:

$$\text{vochtgehalte (\%)} = 100 - \text{percentage droge stof}$$

Bijlage 10. Acute bioassays (screeningstesten)

I. Acute algentest

A Algemene beschrijving

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 poriewater. De testconcentraties worden aangemaakt door het poriewater 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' (μ). Uit de resultaten voor A en voor μ wordt met behulp van een geschikte statistische methode de concentratie poriewater geschat die, in vergelijking met de blanco, 50% remming van de algengroei geeft (EC₅₀). Voor deze test kan, afhankelijk van het protocol, gebruik worden gemaakt van de groenalg *Scenedesmus subspicatus*, *Raphidocelis subcapitata* (voorheen: *Selenastrum capricornutum*) of *Chlorella pyrenoidosa*.

De uitvoering van deze test met behulp van de commercieel beschikbare Algaltoxkit F™ is kosten-effectiever dan de conventionele uitvoering van deze test. Dit omdat onder andere niet langer gebruik wordt gemaakt van in het laboratorium gekweekte algen (conventionele uitvoering), maar van algen (*Raphidocelis subcapitata*) die worden verkregen door cellen te mobiliseren uit zogenaamde 'algal beads'. In deze geïmmobiliseerde vorm blijven de algencellen, mits gekoeld en donker bewaard, gedurende lange tijd 'levensvatbaar'.

Bij de uitvoering van de Toxkit-test wordt de bij deze Toxkit bijgevoegde richtlijn (Standard Operational Procedure) gevolgd (Creasel, 1996b). Deze is gebaseerd op de OECD 201-richtlijn. Na 24, 48 en 72 uur blootstelling wordt in alle replica's, van iedere concentratie, spectrofotometrisch de optische dichtheid gemeten, en vervolgens omgerekend naar het aantal algencellen per ml, waarna eveneens A en μ worden berekend.

B Bijzonderheden t.a.v. de uitvoering

Bepaling EC₅₀ poriewater (verduunningsreeks)

Bij de uitvoering wordt de bij deze Toxkit bijgevoegde richtlijn gevolgd en wordt aanbevolen om de 5 volgende concentraties poriewater in drievoud te testen: 100 (onverdund), 56, 32, 18 en 10 volume %. Deze reeks wordt bereid door het gewonnen poriewater (zie bijlage 8-IV) te verdunnen met het standaard zoetwatermedium uit deze Toxkit. Voor het schatten van de EC₅₀-waarde voor A en μ kan bijvoorbeeld gebruik worden gemaakt van de verdelingsvrije 'Trimmed Spearman-Kärber'-methode (Tidepool, 1993). Een niet verdelingsvrije (parametrische) methode kan ook worden gebruikt mits voldaan wordt aan de daarvoor gestelde randvoorwaarden.

Beoordeling van slechts één concentratie poriewater

Indien slechts één concentratie poriewater wordt beoordeeld dan kan deze test worden uitgevoerd volgens een gemodificeerde versie van de bij deze Toxkit bijgevoegde richtlijn. Hierbij worden in plaats van een verduunningsreeks met 3 replica's per testconcentratie uitsluitend 6 replica's van de betreffende concentratie beoordeeld (zie bijlage 14). Na 24, 48 en 72 uur blootstelling wordt in iedere replica spectrofotometrisch de optische dichtheid gemeten, die vervolgens wordt omgerekend naar het aantal algencellen per ml. Op basis hiervan worden A en μ berekend. Tenslotte wordt bijvoorbeeld met behulp van de parametrische 'Bonferroni'-test getoetst of er ten opzichte van het blancotestmedium significante verschillen in de waarnemingen voor A en μ zijn. Hiervoor wordt eerst getoetst of voldaan wordt aan de eisen t.a.v. normaliteit en homogeniteit van varianties. Indien hieraan niet wordt voldaan, dan wordt voor het toetsen van verschillen gebruik

gemaakt van een niet-parametrische methode (bijv. de 'Wilcoxon'-rangsomtest). Daarna wordt het testresultaat verder beoordeeld (zie E). Voor de statistische toetsingen kan bijvoorbeeld gebruik worden gemaakt van het software pakket SPSS (Norusis, 1992).

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 en Maas, 1995):

pH	O ₂ (mg/l)	NO ₂ ⁻ (mg/l)	NH ₄ ⁺ (mg/l)	NH ₃ (mg/l)	Geleidbaarheid (µS/mm)
8,3 ± 1*	niet bekend	≤ 500	≤ 45	≤ 2,4	≤ 320**

*: bijvoorkeur is de variatie in pH nog lager omdat de pH een grote invloed heeft op de groei(snelheid) van algen;

** : geldt voor de zoetwateralg *Chlorella*.

D Geldigheidscriteria

De volgende geldigheidscriteria zijn van toepassing bij het testen van verdunde en onverdunde (porie)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);
- De pH in de blanco mag niet meer dan 1 eenheid variëren gedurende de test.

E Beoordeling

Nadat gecontroleerd is of de uitgevoerde test aan de geldigheidscriteria voldoet, kunnen de resultaten van de test worden beoordeeld. Hiervoor zijn op dit moment echter nog geen 'Triade'-criteria (Maas *et al.*, 1993) geformuleerd. Voor de beoordeling wordt voorgesteld om gebruik te maken van de volgende criteria:

Waargenomen effect (pw = poriewater)	classificatie	beoordeling effect
EC ₅₀ > 100 vol.% pw of < 50 % effect in 100 vol.% pw of géén significant effect in 100 vol.% pw	-	géén
EC ₅₀ > 56 en ≤ 100 vol.% pw of ≥ 50 % effect in 100 vol.% pw of significant effect in 100 vol.% pw	+/-	matig
EC ₅₀ ≤ 56 vol.% pw of ≥ 50 % effect in 56 vol.% pw of significant effect in 56 vol.% pw	+	ernstig

De wijze waarop vervolgens kan worden beoordeeld of een actueel risico aannemelijk is, is weergegeven in paragraaf 7.1.1.

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 15.

H Ervaring

Deze techniek is nog niet gangbaar als Triade-techniek (Maas *et al.*, 1993). In Nederland is hiermee derhalve nog maar weinig ervaring opgedaan bij de beoordeling van verontreinigde waterbodems. Deze veelbelovende techniek is echter als aanvullende techniek geselecteerd omdat (zie 5.3.1):

- In een omvangrijke studie naar verontreinigde waterbodems in Vlaanderen, de acute algentest een van de meest gevoelige technieken bleek voor het kunnen aantonen van toxiciteit in poriewater (de Cooman, 1995a);
- Hiermee toxiciteit gedetecteerd kan worden van specifieke stoffen die de fotosynthese-activiteit remmen;
- Recent de Algaltokit-test beschikbaar is gekomen, waardoor deze techniek tegen relatief lage kosten kan worden uitgevoerd.

De ervaringen van de waterkwaliteitsbeheerders met deze techniek bij de beoordeling van oppervlaktewater zijn weergegeven in STOWA (1997).

I Beschikbaarheid en kosten

Deze test kan worden uitgevoerd met zelf gekweekte algen. Deze test is als Algaltokit ook commercieel beschikbaar via AquaSense 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 EC₅₀. Indien slechts één concentratie poriewater, met een dubbel aantal replica's wordt 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 maal één concentratie en 1 blanco met 6 replica's per monster. Hierbij is uitgegaan van het gebruik van de Algaltokit.

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 ($K_2Cr_2O_7$) als referentiestof uit te voeren. De ISO 8692 norm (1989) specificeert een range met betrekking tot de $EC_{50, 72\text{uur}}$ -waarden voor *Scenedesmus subspicatus* en/of *Raphidocelis subcapitata* van 0,60 - 1,03 voor ' μ ' dan wel van 0,20 - 0,75 mg $K_2Cr_2O_7/l$ voor 'A'. De NEN 6506 norm (1984) geeft voor de groeisnelheid van *Scenedesmus* daarentegen een acceptatierange van $1,02 \pm 0,18$ mg $K_2Cr_2O_7/l$ en noemt voor *Chlorella pyrenoidosa* een acceptatierange van $0,70 \pm 0,07$ mg $K_2Cr_2O_7/l$.
- In testen met oppervlaktewater (STOWA, 1997) bleek dat het conventionele blancotestmedium veel minder nutriënten bevat dan oppervlaktewater, waardoor de algengroei zelfs in verontreinigd oppervlaktewater vaak hoger is. Hier werd aanbevolen om de mogelijkheid voor het samenstellen van een gestandaardiseerd medium met een hogere nutriëntensamenstelling te onderzoeken. Of dit voor poriewater ook het geval is, zal toekomstig onderzoek uit moeten wijzen. De resultaten voor de Sassenheimervaart (zie hoofdstuk 8) wezen hier vooralsnog niet op;
- Bij de bovengenoemde uitvoering van de algentest in deze vaart met behulp van de Algaltoxkit bleek de bepaling van het aantal algencellen op basis van de voorgeschreven spectrofotometrische analyse onbetrouwbaar vanwege de vorming van zwevende partikeltjes in het poriewater gedurende de test. Om toch over bruikbare testresultaten te kunnen beschikken dient in dergelijke gevallen het aantal algencellen op een andere manier te worden bepaald (tellen in een telkamer of bijv. met een Optical Plankton Analyser). Onduidelijk is nog of dit voorval een incident betreft of dat dit frequent optreedt.

K Referenties

(zie de literatuurlijst voor de volledige referenties)

Botterweg, 1996; de Cooman, 1995a; Creasel, 1996b; ISO 8692, 1989; Maas *et al.*, 1993; Maas, 1995; NEN 6506, 1984; Norusis, 1992; OECD 201, 1984; U.S. EPA - Environmental Protection Agency, 1989; STOWA, 1997; Tidepool, 1993.

II. Acute bacterietest

A Algemene beschrijving

De (lab)bioassay met de mariene bacterie *Vibrio fischeri* (voorheen *Photobacterium phosphoreum*) wordt uitgevoerd volgens de NVN 6516 (1993) richtlijn. Deze bacterie behoort tot de familie *Vibrionaceae* en komt voor op grote diepte: vrijlevend, of als symbiont in de lichtgevend organen van vissen (de Cooman, 1996a). Een deel van de uit de stofwisseling (ademhalingscyclus) 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 poriewater. De analyses worden in duplo uitgevoerd, waarna per blootstellingsduur één gemiddelde EC_{20} -waarde wordt bepaald. De EC_{20} -waarde (Effect Concentratie) is gedefinieerd als de concentratie poriewater, 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_{20} -waarden wordt gebruikt om de toxiciteit van het poriewater aan te geven.

De ecologische relevantie van deze bacteriesoort kan in twijfel worden getrokken, maar doordat de test gebaseerd is op een essentiële biochemische reactie, die gedurende de evolutie zo goed als geen wijzigingen heeft ondergaan (de Cooman, 1996a), is deze test toch bruikbaar voor de beoordeling van verontreinigd zout en (na bijstelling van het zoutgehalte: zie J) zoet poriewater (Brils en den Besten, 1995).

B Bijzonderheden t.a.v. de uitvoering

Bepaling EC_{20} poriewater (verdunningsreeks):

Het poriewater dient direct na winning te worden getest volgens NVN 6516 richtlijn (1993). Uitgaande van het Microtox®-testsysteem wordt aanbevolen om de 4 volgende concentraties poriewater in duplo te testen: 45, 22.5, 11.25 en 5.625 volume %. Met behulp van de bij het testsysteem behorende programmatuur wordt daarna per blootstellingsduur één gemiddelde EC_{20} -waarde bepaald. De laagste van deze drie waarden wordt verder beoordeeld (zie E).

Beoordeling van slechts één concentratie poriewater:

Indien slechts één concentratie poriewater wordt beoordeeld dan kan deze test worden uitgevoerd volgens een gemodificeerde versie van het protocol voor de '100%' -test uit het Microtox-handboek (Microbics, 1992). Hierbij wordt in plaats van een verdunningsreeks met twee replica's per testconcentratie uitsluitend 5 replica's (zie bijlage 14) van de betreffende concentratie beoordeeld. Na 5, 15 en 30 minuten blootstelling wordt in iedere replica met behulp van de Microtox-lichtmeter de bioluminescentie (I) gemeten. Per monster worden gelijktijdig ook 5 blanco's getest en gemeten. Op basis van deze waarnemingen worden 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)⁵

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

Tenslotte wordt voor de laagste van de op de drie tijdstippen bepaalde Γ -waarde bijvoorbeeld met behulp van de parametrische 'Bonferroni'-test getoetst of er ten opzichte van de blanco significante verschillen in de waarnemingen voor Γ zijn. Hiervoor wordt 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). Daarna wordt het testresultaat verder beoordeeld (zie E). Voor de statistische toetsingen kan bijvoorbeeld gebruik worden gemaakt van het software pakket SPSS (Norusis, 1992).

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.

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

*: 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_{10, 15 min}-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 marine bacterie *V. fischeri* wordt toegevoegd.

D Geldigheidscriteria

De volgende geldigheidscriteria zijn van toepassing bij het testen van één concentratie poriewater:

- 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 EC₂₀) te testen i.p.v. uitsluitend één concentratie:

- De blanco afname (R_t) dient tussen de 0,6 en 1,3 liggen;
- De laagste van de drie gemiddelde EC₂₀-waarden moet kunnen worden geïnterpoleerd;
- De EC₂₀-waarden van de duplotoetsen mogen niet meer dan 15% van elkaar afwijken.

⁵ 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.

E Beoordeling

Nadat gecontroleerd is of de uitgevoerde test aan de geldigheidscriteria voldoet, kunnen de resultaten van de test worden beoordeeld. Hiervoor zijn de in het onderstaande schema weergegeven 'Triade'-criteria beschikbaar voor EC_{20} - en TI-waarden (Maas *et al.*, 1993). Voor de beoordeling van het effect in individuele testconcentraties zijn deze nog niet beschikbaar, maar wordt voorgesteld om gebruik te maken van de eveneens in het schema aangegeven criteria:

Waargenomen effect (pw = poriewater)	classificatie	beoordeling effect
$EC_{20} > 45 \text{ vol.\% pw (TI}^* < 2,2)$ <u>of</u> $< 20 \text{ \% effect in } 45 \text{ vol.\% pw}$ <u>of</u> géén significant effect in 45 vol.% pw	-	géén
$EC_{20} > 10 \text{ en } \leq 45 \text{ vol.\% pw (} 2,2 \leq \text{TI} < 10)$ <u>of</u> $\geq 20 \text{ \% effect in } 45 \text{ vol.\% pw}$ <u>of</u> significant effect in 45 vol.% pw	+/-	matig
$EC_{20} \leq 10 \text{ vol.\% pw (TI} \geq 10)$ <u>of</u> $\geq 20 \text{ \% effect in } 11,25 \text{ vol.\% pw}$ <u>of</u> significant effect in 11,25 vol.% pw	+	ernstig

*: $TI = 100/EC_{20}$;

De wijze waarop vervolgens kan worden beoordeeld of een actueel risico aannemelijk is, is weergegeven in paragraaf 7.1.1.

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 elutriaat) en waterige monsters (oppervlaktewater en afvalwater) (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 15.

H Ervaring

Met deze gangbare Triade-techniek (Maas *et al.*, 1993) is in Nederland reeds positieve ervaring opgedaan bij de beoordeling van verontreinigde rijkswaterbodems. Ook is deze techniek reeds toegepast in het kader van Nader onderzoek in regionale wateren (zie bijlage 5). De ervaringen van de waterkwaliteitsbeheerders met deze techniek bij de beoordeling van oppervlaktewater zijn weergegeven in STOWA (1997).

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 maal één concentratie 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:

- 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 doorslaggevende betekenis wordt geacht, kan de juiste osmotische druk van het te toetsen poriewatermonster ook worden verkregen door in plaats van natriumchloride, sucrose toe te voegen. Dit geeft dezelfde osmotische 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);
- Gezien de verschillen in bereiding van voorraad- en testsuspensie 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 maskerende⁶ verbindingen, afkomstig uit de reacteringsvloeistof of het medium waarin de bacteriën oorspronkelijk door de fabrikant zijn gekweekt (NVN 6516, 1993);

⁶ 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 6516, 1993).

K Referenties

(zie de literatuurlijst voor de volledige referenties)

Becker van Slooten *et al.*, 1996; Botterweg, 1996; Brils en den Besten, 1995; de Cooman, 1996a; Maas *et al.*, 1993; Maas, 1995; Microbics, 1992; Norusis, 1992; NVN 6516, 1993; STOWA, 1997; Tarkpea *et al.*, 1986 en Thomas *et al.*, 1986 in: Munkittrick *et al.*, 1991; Willemsen *et al.*, 1995.

III. Acute Thamnotoxkit F-test

A Algemene beschrijving

De Thamnotoxkit F-test (lab-bioassay) wordt uitgevoerd met de kreeftachtige *Thamnocephalus platyurus* volgens het bij deze testkit bijgeleverde protocol (Creasel, 1990b). De sterfte van juveniele kreeftachtigen wordt beoordeeld na 24 uur blootstelling aan poriewater. Voor de test wordt een verdunningsreeks van het poriewater aangemaakt met 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 (LC₅₀).

Hoewel *T. platyurus* slechts zelden in permanente watersystemen wordt aangetroffen, kan deze soort zich hier, evenals andere kleine kreeftachtigen, goed handhaven. Doordat een hoge predatiedruk niet kan worden weerstaan, heeft deze soort zich echter teruggetrokken in ecologisch extreme habitats, in dit geval in periodiek droogvallende gebieden. De periode van droogte wordt overleefd door de productie van 'duureieren', cysten genaamd. Wanneer de omstandigheden beter worden, ontluiken nauplii uit deze cysten, en groeien daarna snel uit tot adulten (Creasel, 1990b).

B Bijzonderheden t.a.v. de uitvoering

Bepaling LC₅₀ poriewater (verdunningsreeks)

Bij de uitvoering wordt de bij deze Toxkit bijgevoegde richtlijn gevolgd. Aanbevolen wordt om de volgende 5 concentraties poriewater te testen: 100 (onverdund), 56, 32, 18 en 10 volume %. Deze reeks wordt bereid door het gewonnen poriewater (zie bijlage 8-IV) te verdunnen met het standaard zoetwatermedium uit deze Toxkit. Voor het schatten van de LC₅₀-waarde kan bijvoorbeeld gebruik worden gemaakt van de verdelingsvrije 'Trimmed Spearman-Kärber'-methode (Tidepool, 1993). Een niet verdelingsvrije (parametrische) methode kan ook worden gebruikt mits voldaan wordt aan de daarvoor gestelde randvoorwaarden.

Beoordeling van slechts één concentratie poriewater

Indien slechts één concentratie poriewater wordt beoordeeld dan kan deze test worden uitgevoerd volgens een gemodificeerde versie van de bij deze Toxkit bijgevoegde richtlijn. Hierbij worden in plaats van een verdunningsreeks met 3 replica's per testconcentratie uitsluitend 12 replica's van de betreffende concentratie beoordeeld (zie bijlage 14). Na 24 uur blootstelling wordt in iedere replica het aantal dode kreeftachtigen geteld.

De gevonden discontinue data worden daarna (arcsinus, logit of probit) getransformeerd tot 'continue data', waarna een parametrische, statistische toetsing mag worden uitgevoerd (Hill *et al.*, 1993). Met bijvoorbeeld de 'Bonferroni'-test kan worden getoetst of er ten opzichte van de blanco significante verschillen in overleving zijn. Hiervoor wordt eerst getoetst of voldaan wordt aan de eisen t.a.v. normaliteit en homogeniteit van varianties. Indien hieraan niet wordt voldaan, dan wordt voor het toetsen van verschillen gebruik gemaakt van een niet-parametrische methode (bijv. de 'Wilcoxon'-rangsomtest). Daarna wordt het testresultaat verder beoordeeld (zie E). Voor de statistische toetsingen kan bijvoorbeeld gebruik worden gemaakt van het software pakket SPSS (Norusi, 1992).

C Randvoorwaarden

Voor een aantal fysisch-chemische parameters staan de waarden, waarbij tijdens een acute blootstelling van *Thamnocephalus platyurus* géén beïnvloeding van het testresultaat wordt

verwacht (de zogenaamde randvoorwaarden), vermeld in de volgende tabel (Botterweg, 1996 en Maas, 1995):

pH	O ₂ (mg/l)	NO ₂ ⁻ (mg/l)	NH ₄ ⁺ (mg/l)	NH ₃ (mg/l)	Cl ⁻ (g/l)	Geleidbaarheid (μS/mm)	Saliniteit (‰)
5 - 11	≥ 3	≤ 9	≤ 40	≤ 2,1	≤ 1,6	≤ 385	≤ 3

D Geldigheidscriteria

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

- De te testen concentraties 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 Beoordeling

Nadat gecontroleerd is of de uitgevoerde test aan de geldigheidscriteria voldoet, kunnen de resultaten van de test worden beoordeeld. Hiervoor zijn op dit moment echter nog geen 'Triade'-criteria (Maas *et al.*, 1993) geformuleerd. Voor de beoordeling wordt voorgesteld om gebruik te maken van de volgende criteria:

Waargenomen effect (pw = poriewater)	classificatie	beoordeling effect
EC ₅₀ > 100 vol.% pw of < 50 % effect in 100 vol.% pw of géén significant effect in 100 vol.% pw	-	géén
EC ₅₀ > 56 en ≤ 100 vol.% pw of ≥ 50 % effect in 100 vol.% pw of significant effect in 100 vol.% pw	+/-	matig
EC ₅₀ ≤ 56 vol.% pw of ≥ 50 % effect in 56 vol.% pw of significant effect in 56 vol.% pw	+	ernstig

De wijze waarop vervolgens kan worden beoordeeld of een actueel risico aannemelijk is, is weergegeven in paragraaf 7.1.1.

F Toepassingsgebied en periode

De acute Thamnotoxkit F-test is bruikbaar voor de beoordeling van de toxiciteit van stoffen, waterige monsters en waterbodems (via het poriewater en/of elutriaat). De test is niet geschikt voor het testen van stoffen of monsters, 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.

G Gevoeligheid

Op basis van 146 waarnemingen (toxiciteitdata voor zuivere stoffen, effluenten, sedimentmonsters etc.) is in een vergelijkende studie een bijna 1 op 1 relatie (significant) gevonden voor de gevoeligheid van de acute watervlooiëntest en de Thamnotoxkit F-test (Persoone *et al.*, 1994). De verwachting is dan ook dat de gevoeligheid van *Thamnocephalus platyurus* vergelijkbaar is met *Daphnia magna* (zie bijlage 10-IV). De test is daarmee 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 15.

H Ervaring

Deze techniek is nog niet algemeen gangbaar als Triade-techniek (Maas *et al.*, 1993). In Nederland is hiermee echter toch al enige ervaring opgedaan bij de beoordeling van verontreinigde (rijks)waterbodems (zie o.a. AquaSense, 1994a, 1995, 1996a, 1996b en 1997). Hier bleek deze techniek voldoende gevoelig te zijn om negatieve effecten te kunnen meten. In een omvangrijke studie naar verontreinigde waterbodems in Vlaanderen, bleek de Thamnotoxkit F-test zelfs een van de meest gevoelige technieken voor het kunnen aantonen van toxiciteit in poriewater (de Cooman, 1995a). Mede doordat de techniek snel, eenvoudig, routinematig bruikbaar en voldoende gestandaardiseerd is, is deze veelbelovende techniek als aanvullende techniek geselecteerd (zie 5.3.1).

De ervaringen van de waterkwaliteitsbeheerders met deze techniek bij de beoordeling van oppervlaktewater zijn weergegeven in STOWA (1997).

I Beschikbaarheid en kosten

Deze test is als Thamnotoxkit F commercieel beschikbaar via AquaSense in Amsterdam. Deze toxkit bevat een gedetailleerde richtlijn (SOP), verbruiksmateriaal en testdieren. Met één toxkit kunnen 6 complete verdunningsreeksen (1 blanco en 5 concentraties) met ieder 3 replica's per concentratie worden getest ter bepaling van de LC50. Indien slechts één concentratie poriewater, met een dubbel aantal replica's wordt 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 maal één concentratie en 1 blanco met 12 replica's per monster.

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 Thamnotoxkit 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 *Thamnocephalus platyurus* en ter controle van de testprocedure wordt een test uitgevoerd met kaliumdichromaat als referentiestof. De $LC_{50, 24hr}$ dient tussen de 0,09 en 0,15 mg/l te liggen (Creasel, 1990b). 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)

AquaSense, 1994a, 1995, 1996a, 1996b en 1997; Botterweg, 1996; Doorman, 1995a; Creasel 1990b; Hill *et al.*, 1993; Maas, 1995; Maas *et al.*, 1993 en 1994; Norusis, 1992; Persoone *et al.*, 1994; STOWA, 1997; Tidepool, 1993.

IV. Acute watervlooiëntest

A Algemene beschrijving

De acute watervlooiëntest (lab-bioassay) wordt volgens de ISO 6341 (1989), NEN 6501 (1980), OECD 202 (1984) richtlijn uitgevoerd met de watervlo *Daphnia magna*. Juveniele watervlooien (< 24 uur oud) worden blootgesteld aan verschillende concentraties poriewater. Deze testconcentraties worden aangemaakt door verdunning van het poriewater 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 (EC₅₀).

De uitvoering van deze test met behulp van de commercieel beschikbare Daphtoxkit FTM is kosten-effectiever dan de conventionele uitvoering van deze test. Dit onder andere omdat niet langer gebruik wordt gemaakt van in het laboratorium gekweekte watervlooien (conventionele uitvoering), maar van watervlooien (*D. magna* of *D. pulex*) die worden verkregen na 'ontluiking' van juvenielen uit zogenaamde wintereieren (ephippia). In deze vorm blijven de watervlooien, mits gekoeld en donker bewaard, gedurende lange tijd 'levensvatbaar'. Bij de uitvoering van de test wordt de bij deze Toxkit bijgevoegde richtlijn (Standard Operational Procedure) gevolgd (Creasel, 1996a).

B Bijzonderheden t.a.v. de uitvoering

Bepaling EC₅₀ poriewater (verdunningsreeks)

Bij de uitvoering wordt de ISO 6341-richtlijn (1989) gevolgd, en wordt aanbevolen om de volgende 5 concentraties poriewater te testen: 100 (onverdund), 56, 32, 18 en 10 volume %. Deze reeks wordt bereid door het gewonnen poriewater (zie bijlage 8-IV) te verdunnen met Dutch Standard Water Na 24 en 48 uur blootstelling wordt per testconcentratie het aantal dode en immobiele dieren gescoord. Op basis hiervan wordt de LC₅₀-waarde geschat, waarbij bijvoorbeeld gebruik kan worden gemaakt van de verdelingsvrije 'Trimed Spearman-Kärber'-methode (Tidepool, 1993). Een niet verdelingsvrije (parametrische) methode kan ook worden gebruikt mits voldaan wordt aan de daarvoor gestelde randvoorwaarden.

Beoordeling van slechts één concentratie poriewater

Indien slechts één concentratie poriewater wordt beoordeeld dan kan deze test worden uitgevoerd volgens een gemodificeerde versie van de ISO 6341-richtlijn (1989). Hierbij worden in plaats van een verdunningsreeks met 4 replica's (met ieder 5 watervlooien) per testconcentratie uitsluitend 8 replica's van de betreffende concentratie beoordeeld (zie bijlage 14). De gevonden discontinue data worden daarna (arcsinus, logit of probit) getransformeerd tot 'continue data', waarna een parametrische, statistische toetsing mag worden uitgevoerd (Hill *et al.*, 1993). Met bijvoorbeeld de 'Bonferroni'-test kan worden getoetst of er ten opzichte van de blanco significante verschillen in overleving zijn. Hiervoor wordt eerst getoetst of voldaan wordt aan de eisen t.a.v. normaliteit en homogeniteit van varianties. Indien hieraan niet wordt voldaan, dan wordt voor het toetsen van verschillen gebruik gemaakt van een niet-parametrische methode (bijv. de 'Wilcoxon'-rangsomtest). Daarna wordt het testresultaat verder beoordeeld (zie E). Voor de statistische toetsingen kan bijvoorbeeld gebruik worden gemaakt van het software pakket SPSS (Norusis, 1992).

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 ₂ (mg/l)	hardheid (mg CaCO ₃ /l)	NO ₂ ⁻ (mg/l)	NH ₄ ⁺ (mg/l)	NH ₃ (mg/l)	Na ₂ SO ₄ (mg/l)	Cl ⁻ (g/l)	Saliniteit (‰)	Geleidbaarheid (µS/mm)
5,5 - 9	≥ 3	≤ 1500	≤ 48	≤ 100	3,8	≤ 5000	≤ 3	≤ 5	750
*	*	*	*	*	*	***	*	**	*

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

** : Overgenomen uit Botterweg (1996);

***: De randvoorwaarde voor deze chemische parameter is gebaseerd op de door Becker van Slooten *et al.* (1996) vastgestelde EC_{10, 24 uur}-waarde voor de watervlo *Daphnia magna*.

D Geldigheidscriteria

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

- De monsters en de blanco moeten voldoen aan de randvoorwaarden (zie C);
- Het percentage immobiele watervlooien 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 Beoordeling

Nadat gecontroleerd is of de uitgevoerde test aan de geldigheidscriteria voldoet, kunnen de resultaten van de test worden beoordeeld. Hiervoor zijn op dit moment echter nog geen 'Triade'-criteria (Maas *et al.*, 1993) geformuleerd. Voor de beoordeling wordt voorgesteld om gebruik te maken van de volgende criteria:

Waargenomen effect (pw = poriewater)	classificatie	beoordeling effect
EC ₅₀ > 100 vol.% pw of < 50 % effect in 100 vol.% pw of géén significant effect in 100 vol.% pw	-	géén
EC ₅₀ > 56 en ≤ 100 vol.% pw of ≥ 50 % effect in 100 vol.% pw of significant effect in 100 vol.% pw	+/-	matig
EC ₅₀ ≤ 56 vol.% pw of ≥ 50 % effect in 56 vol.% pw of significant effect in 56 vol.% pw	+	ernstig

De wijze waarop vervolgens kan worden beoordeeld of een actueel risico aannemelijk is, is weergegeven in paragraaf 7.1.1.

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 F) 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 en mogelijk ook voor de beoordeling van waterbodems.

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 15.

H Ervaring

Deze techniek is, in tegenstelling tot de chronische variant (zie bijlage 11-I), nog niet gangbaar als Triade-techniek (Maas *et al.*, 1993). Deze techniek is wel gangbaar voor de beoordeling van stoffen, afval- en (concentraten van) oppervlaktewater. Deze acute techniek is geselecteerd als alternatief voor de veelbelovende, goedkopere Thamnotoxkit F-test (zie bijlage 10-III). Hierbij wordt verondersteld dat beide technieken een vergelijkbare gevoeligheid hebben. Een reden om toch te kiezen voor de duurdere, acute watervlooiëntest is dat hiervoor veel meer toxiciteitdata beschikbaar zijn.

De ervaringen van de waterkwaliteitsbeheerders met deze techniek bij de beoordeling van oppervlaktewater zijn weergegeven in STOWA (1997).

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 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 EC₅₀. Indien slechts één concentratie poriewater, met een dubbel aantal replica's wordt 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 maal één concentratie 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 wordt een speciale lichttafel voor het beoordelen van de testresultaten 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 periodiek een acute test (24 of 48 uur) uitgevoerd met kaliumdichromaat (K₂Cr₂O₇) of 3,4-DCA. De waarde voor de EC_{50,24hr} van kaliumdichromaat dient binnen de range van 0,9 tot 2,4 mg/l te liggen (ISO 6341, 1989), en voor de EC_{50,48hr} van 3,4-DCA binnen de range van 0,1 tot 0,7 mg/l (Maas et al., 1993).

K Referenties

(zie de literatuurlijst voor de volledige referenties)

Becker van Slooten *et al.*, 1996; Botterweg, 1996; Creasel, 1996a; Hill *et al.*, 1993; ISO 6341, 1989; Maas, 1995; Maas *et al.*, 1993; NEN 6501, 1980; Norusis, 1992; OECD 202, 1984, STOWA, 1997; Tidepool, 1993

V. Acute Rotoxkit F-test

A Algemene beschrijving

De Rotoxkit F-test (lab-bioassay) wordt uitgevoerd met het raderdiertje *Brachionus calyciflorus* volgens het bij deze testkit bijgeleverde protocol (Creasel, 1990a) of volgens ASTM E 140 (ASTM, 1991). Hierbij wordt de sterfte van juveniele raderdieren beoordeeld na 24 uur blootstelling aan poriewater. Voor de test wordt een verdunningsreeks van het poriewater 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 (LC₅₀).

Rotiferen van het genus *Brachionus* komen voor op alle continenten en in diverse aquatische habitats. Rotiferen zijn als filter-feeders, die zich voeden met fytoplankton en bacteriën, belangrijke vertegenwoordigers in veel aquatische levensgemeenschappen. De begrazingsdruk is soms zelf hoger dan die van het kreeftachtige zoöplankton. Ook de rol in de nutriëntencyclus is misschien zelfs belangrijker dan die van de kreeftachtigen. Op bepaalde momenten in het jaar vertegenwoordigen rotiferen de grootste fractie biomassa voor zoöplankton. Verder is veel bekend over de biologie van dit organisme (Creasel, 1990a).

B Bijzonderheden t.a.v. de uitvoering

Bepaling EC₅₀ poriewater (verdunningsreeks)

Bij de uitvoering wordt de bij deze Toxkit bijgevoegde richtlijn gevolgd. Aanbevolen wordt om de volgende 5 concentraties poriewater te testen: 100 (onverdund), 56, 32, 18 en 10 volume %. Deze reeks wordt bereid door het gewonnen poriewater (zie bijlage 8-IV) te verdunnen met het standaard zoetwatermedium uit deze Toxkit. Voor het schatten van de LC₅₀-waarde kan bijvoorbeeld gebruik worden gemaakt van de verdelingsvrije 'Trimed Spearman-Kärber'-methode (Tidepool, 1993). Een niet verdelingsvrije (parametrische) methode kan ook worden gebruikt mits voldaan wordt aan de daarvoor gestelde randvoorwaarden.

Beoordeling van slechts één concentratie poriewater

Indien slechts één concentratie poriewater wordt beoordeeld dan kan deze test worden uitgevoerd volgens een gemodificeerde versie van de bij deze Toxkit bijgevoegde richtlijn. Hierbij worden in plaats van een verdunningsreeks met 6 replica's per testconcentratie uitsluitend 12 replica's van de betreffende concentratie beoordeeld (zie bijlage 14). Na 24 uur blootstelling wordt in iedere replica het aantal dode rotiferen geteld.

De gevonden discontinue data worden daarna (arcsinus, logit of probit) getransformeerd tot 'continue data', waarna een parametrische, statistische toetsing mag worden uitgevoerd (Hill *et al.*, 1993). Met bijvoorbeeld de 'Bonferroni'-test kan worden getoetst of er ten opzichte van de blanco significante verschillen in overleving zijn. Hiervoor wordt eerst getoetst of voldaan wordt aan de eisen t.a.v. normaliteit en homogeniteit van varianties. Indien hieraan niet wordt voldaan, dan wordt voor het toetsen van verschillen gebruik gemaakt van een niet-parametrische methode (bijv. de 'Wilcoxon'-rangsomtest). Daarna wordt het testresultaat verder beoordeeld (zie E). Voor de statistische toetsingen kan bijvoorbeeld gebruik worden gemaakt van het software pakket SPSS (Norusis, 1992).

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 en Maas, 1995):

pH	O ₂ (mg/l)	NO ₂ ⁻ (mg/l)	NH ₄ ⁺ (mg/l)	NH ₃ (mg/l)	Cl ⁻ (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 poriewatermonsters:

- De te testen concentraties 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 Beoordeling

Nadat gecontroleerd is of de uitgevoerde test aan de geldigheidscriteria voldoet, kunnen de resultaten van de test worden beoordeeld. Hiervoor zijn op dit moment echter nog geen ‘Triade’-criteria (Maas *et al.*, 1993) geformuleerd. Voor de beoordeling wordt voorgesteld om gebruik te maken van de volgende criteria:

Waargenomen effect (pw = poriewater)	classificatie	beoordeling effect
EC ₅₀ > 100 vol.% pw of < 50 % effect in 100 vol.% pw of géén significant effect in 100 vol.% pw	-	géén
EC ₅₀ > 56 en ≤ 100 vol.% pw of ≥ 50 % effect in 100 vol.% pw of significant effect in 100 vol.% pw	+/-	matig
EC ₅₀ ≤ 56 vol.% pw of ≥ 50 % effect in 56 vol.% pw of significant effect in 56 vol.% pw	+	ernstig

De wijze waarop vervolgens kan worden beoordeeld of een actueel risico aannemelijk is, is weergegeven in paragraaf 7.1.1.

F Toepassingsgebied en periode

De acute Rotokit 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 of monsters , 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 15.

H Ervaring

Deze techniek is nog niet algemeen gangbaar als Triade-techniek (Maas *et al.*, 1993). In Nederland is hiermee echter toch al enige ervaring opgedaan bij de beoordeling van verontreinigde (rijks)waterbodems (zie o.a. AquaSense, 1994a, 1995, 1996a, 1996b en 1997). Hier bleek deze techniek voldoende gevoelig te zijn om negatieve effecten te kunnen meten. Mede doordat de techniek snel, eenvoudig, routinematig bruikbaar en voldoende gestandaardiseerd is, is deze veelbelovende techniek als aanvullende techniek geselecteerd (zie 5.3.1).

De ervaringen van de waterkwaliteitsbeheerders met deze techniek bij de beoordeling van oppervlaktewater zijn weergegeven in STOWA (1997).

I Beschikbaarheid en kosten

Deze test is als Rotoxkit F commercieel beschikbaar via AquaSense 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 LC50. 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 $LC_{50, 24hr}$ dient tussen de 9,6 en 17,8 mg/l te liggen (Creasel, 1990a). 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, 1991; AquaSense, 1994a, 1995, 1996a, 1996b en 1997; Botterweg, 1996; Creasel, 1990a; Maas *et al.*, 1993; Maas, 1995; Noij & Meerkerk, 1995; Norusis, 1992; STOWA, 1997, Tidepool, 1993.

Bijlage 11. Chronische bioassays

I. Chronische watervlooiëntest

A Algemene beschrijving

De chronische watervlooiëntest (lab-bioassay) wordt uitgevoerd met de watervlo *Daphnia magna* volgens de OECD 202 (1984) of OECD 202 part II (1993) richtlijn of de daarvan afgeleide RIZA-methode (Maas *et al.*, 1993). In deze test worden de watervlooien blootgesteld aan verschillende concentraties poriewater. De testconcentraties worden aangemaakt door verdunning met een gestandaardiseerd zoetwatermedium, dat tevens als blanco wordt meegetest. De testduur bedraagt, afhankelijk van het tijdstip waarop het 3^e broedsel in de blanco wordt voltooid, minimaal 14 dagen. Gedurende de test wordt regelmatig het aantal geproduceerde jongen geteld en verwijderd en wordt dagelijks de overleving van de ingezette watervlooien (ouderdieren) gecontroleerd. Uit de resultaten wordt met behulp van een geschikte statistische methode bepaald bij welke testconcentratie ten opzichte van de blanco net wél (LOEC) en net géén (NOEC) significant lagere reproductie kan worden waargenomen.

B Bijzonderheden t.a.v. de uitvoering

Bepaling NOEC_{reproductie} en -sterfte (verdunningsreeks)

De procedure voor uitvoering van deze test is uitvoerig beschreven in de "methodebeschrijving voor de beoordeling van verontreinigde waterbodems volgens de Triade-benadering" (Maas *et al.*, 1993). Hierna volgt een beknopte beschrijving van deze procedure.

Bij voorkeur worden de volgende 4 concentraties poriewater getest: 100 (onverdund), 56, 32 en 10 volume%. Deze reeks wordt bereid door het gewonnen poriewater (zie bijlage 8-IV) te verdunnen met Elendt-medium⁷. Per concentratie worden 10 testvatjes gevuld met 50 ml testmedium. Als blanco-testmedium wordt Elendt-medium gebruikt. In ieder testvatje wordt één watervlo (leeftijd < 24 uur) ingezet. De testduur bedraagt minimaal 14 dagen en kan worden gestopt als het derde broedsel is voltooid. Gedurende de bioassays wordt tweemaal per week het testmedium verversd, en wordt het aantal geproduceerde jongen geteld en verwijderd. Het tellen en verwijderen van de jongen wordt tevens éénmaal per week tussen de beide verversingen uitgevoerd. Dagelijks wordt de overleving van de ingezette watervlooien gecontroleerd, eventuele reproductie genoteerd en wordt gevoerd met een groenalgsuspensie.

Als maat voor de reproductiecapaciteit wordt uit de "cohort life-table"⁸ per poriewaterconcentratie de gemiddelde intrinsieke populatiegroeisnelheid (r_m -) berekend (zie Maas *et al.*, 1992). Met name het moment van eerste reproductie (eerste worp) en de aantallen nakomelingen per worp zijn bepalend voor deze parameter. Met bijvoorbeeld de parametrische Williams' Multiple Comparison wordt getoetst of de verschillen in de gemiddelde r_m -waarden per concentratie significant afwijken van de blanco. Hiervoor wordt eerst getoetst of voldaan wordt aan de eisen t.a.v. normaliteit en homogeniteit van varianties. Indien zelfs na transformatie van de r_m -waarden hieraan niet wordt voldaan, dan wordt voor het toetsen van verschillen gebruik gemaakt van een niet-parametrische methode (bijv. de 'Wilcoxon'-rangsomtest). Op basis van deze statistische analyse wordt de NOEC_{reproductie}-waarde bepaald. Voor de statistische toetsingen kan bijvoorbeeld gebruik worden gemaakt van het software pakket ToxCalc-pakket (Tidepool, 1993).

⁷ Standaardmedium bestaande uit gedemineraliseerd water waaraan enkele zouten en vitaminen toegevoegd zijn. Dit medium wordt gebruikt bij het kweken van *D. magna*.

⁸ Tabel met daarin het aantal nakomelingen per ingezet vrouwtje gedurende de test (Begon *et al.*, 1986).

De $\text{NOEC}_{\text{sterfte}}$ -waarde wordt gelijk gesteld aan die testconcentratie waarbij $\leq 20\%$ sterfte optreedt, mits sprake was van een trend in drie opeenvolgende verdunningen van poriewater (Maas *et al.*, 1993). Indien in hetzij de reproductie (r_m -waarde) hetzij de sterfte geen sprake was van een duidelijke trend in opeenvolgende verdunningen, wordt een indicatieve NOEC -waarde vastgesteld aan de hand van de beschikbare informatie over het verloop binnen de geteste concentratiereeks.

De testresultaten ($\text{NOEC}_{\text{reproductie}}$ en -sterfte) worden daarna verder beoordeeld (zie E).

Beoordeling van slechts één concentratie poriewater

Indien slechts één concentratie poriewater wordt beoordeeld dan kan deze test worden uitgevoerd volgens een gemodificeerde versie van Triade-richtlijn (Maas *et al.*, 1993). Hierbij worden in plaats van een verdunningsreeks met 10 replica's (met ieder 1 watervlo) per testconcentratie uitsluitend 20 replica's (10 r_m -waarden) van de betreffende concentratie beoordeeld (zie bijlage 14). Met bijvoorbeeld de 'Bonferroni'-test kan worden getoetst of er ten opzichte van de blanco significante verschillen in reproductie (r_m -waarden) zijn. Hiervoor wordt eerst getoetst of voldaan wordt aan de eisen t.a.v. normaliteit en homogeniteit van varianties. Indien hieraan niet wordt voldaan, dan wordt voor het toetsen van verschillen gebruik gemaakt van een niet-parametrische methode (bijv. de 'Wilcoxon'-rangsomtest). Daarna wordt het testresultaat verder beoordeeld (zie E). Voor de statistische toetsingen kan bijvoorbeeld gebruik worden gemaakt van het software pakket SPSS (Norusis, 1992).

C Randvoorwaarden

Voor een aantal fysisch-chemische parameters staan de waarden, waarbij tijdens de 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 ₂ (mg/l)	Hardheid (mg CaCO ₃ /l)	NO ₂ ⁻ (mg/l)	NH ₄ ⁺ (mg/l)	NH ₃ (mg/l)	Cl ⁻ (g/l)	Geleidbaarheid (μS/mm)	Saliniteit (‰)
5,5 - 9	≥ 3	≤ 1500	≤ 48	≤ 100	≤ 3,8	≤ 3	≤ 750	≤ 1

D Geldigheidscriteria

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

- De te testen concentraties moeten voldoen aan de randvoorwaarden (zie C);
- Het sterftepercentage van de ouderdieren in de blanco mag gemiddeld maximaal 20% bedragen (≤ 20);
- De eerste nakomelingen moeten in de blanco binnen maximaal 9 dagen worden geboren (≤ 9 dagen);
- Het gemiddelde van het cumulatief aantal nakomelingen per ouderdier moet in de blanco na drie broedsels tenminste 30 bedragen (≥ 30);
- De variatiecoëfficiënt ($\text{CV} = \text{standaardafwijking/gemiddelde}$) van het gemiddeld aantal geproduceerde jongen in blanco mag maximaal 25% bedragen ($\leq 25\%$);
- Wanneer een kwaliteitstest is uitgevoerd, dient het testresultaat binnen de in het protocol vermelde range te liggen (zie J).

E Beoordeling

Nadat gecontroleerd is of de uitgevoerde test aan de geldigheidscriteria voldoet, kunnen de resultaten van de test worden beoordeeld. Hiervoor zijn de in het onderstaande schema weergegeven 'Triade'-criteria beschikbaar voor NOECreproductie-, NOECsterfte- en LC₅₀-waarden (Maas *et al.*, 1993). Voor de beoordeling van het effect op reproductie (r_m -waarde) in individuele testconcentraties zijn deze nog niet beschikbaar, maar wordt voorgesteld om gebruik te maken van de eveneens in het schema aangegeven criteria:

Waargenomen effect (pw = poriewater)	classificatie	beoordeling effect
NOEC _{reproductie} of NOEC _{sterfte} $\geq$ 100 vol.% pw of géén significant effect op r_m in 100 vol.% pw	-	géén
NOEC _{reproductie} of NOEC _{sterfte} $<$ 100 vol.% pw of significant effect op r_m in 100 vol.% pw	+/-	matig
NOEC _{reproductie} of NOEC _{sterfte} $\leq$ 10 vol.% pw of significant effect op r_m in 32 vol.% pw	+	ernstig

De wijze waarop vervolgens kan worden beoordeeld of een actueel risico aannemelijk is, is weergegeven in paragraaf 7.1.1.

F Toepassingsgebied en periode

De chronische watervlooiëntest is bruikbaar voor de beoordeling van de toxiciteit van stoffen, waterige monsters (oppervlakte- en afvalwater) en waterbodems (via het poriewater en/of elutriaat).

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

Voor de chronische watervlooiëntest zijn beduidend minder toxiciteitdata beschikbaar dan voor de acute watervlooiëntest (zie bijlage 15). Vanwege de langere blootstellingsduur kan er van worden uitgegaan dat de chronische test gevoeliger is dan de acute test. De test is derhalve zeer gevoelig voor metalen (vooral Hg, Cu, Cd) en bestrijdingsmiddelen (diverse organofosforbestrijdingsmiddelen, DDT, Endrin, DDD, Hexachloorbenzeen, Aldicarb, Methiocarb en Deltamethrin).

H Ervaring

Met deze gangbare Triade-techniek (Maas *et al.*, 1993) is in Nederland reeds positieve ervaring opgedaan bij de beoordeling van verontreinigde rijkswaterbodems. Ook is deze techniek reeds toegepast in het kader van Nader onderzoek in regionale wateren (zie bijlage 5).

I Beschikbaarheid en kosten

Deze test is niet commercieel beschikbaar als testkit, maar wordt wel door verschillende instanties in Nederland commercieel uitgevoerd.

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

** Inklusief voorbereiding, uitvoering, dataverwerking en rapportage en inclusief kweken algen.

J Aandachtspunten

- Ter controle van de gevoeligheid van *Daphnia magna* wordt periodiek een acute test (24 of 48 uur) uitgevoerd met kaliumdichromaat ($K_2Cr_2O_7$) of 3,4-DCA. De waarde voor de $EC_{50,24hr}$ van kaliumdichromaat dient binnen de range van 0,9 tot 2,4 mg/l te liggen (ISO 6341, 1989), en voor de $EC_{50,48hr}$ van 3,4-DCA binnen de range van 0,1 tot 0,7 mg/l (Maas *et al.*, 1993);
- De dagelijkse hoeveelheid toe te dienen voer is afhankelijk van de kwaliteit (koolstofgehalte) van de groenalgen. Aangezien deze per laboratoriumweek kan verschillen, dient regelmatig het koolstofgehalte van de groenalgen te worden geanalyseerd. De watervlooiën moeten 0,1 - 0,2 mg C per dag ontvangen (Maas *et al.*, 1993).

K Referenties

(zie de literatuurlijst voor de volledige referenties)

Begon *et al.*, 1986; Botterweg, 1996; Maas *et al.*, 1993; Maas, 1995; Norusis, 1992; OECD 202, 1984, OECD 202 part II; 1993; Tidepool *et al.*, 1986.

II. Chronische muggelarventest

A Algemene beschrijving

De chronische muggelarventest (lab-bioassay) wordt uitgevoerd met de Dans- of Vedermuggensoort *Chironomus riparius* volgens de RIZA-methode (Maas *et al.*, 1993). *C. riparius* is een sedimentbewonend (bentisch) organisme. Om deze muggelarve bloot te stellen wordt een sedimentmonster eerst een tijd door middel van schudden gemengd met een gestandaardiseerd (schoon) watermedium. Na bezinken van het sediment worden in het laboratorium gekweekte muggelarven geïntroduceerd in het boven dit sediment staande water. De muggelarven graven zich vervolgens in het sediment in en worden aldus blootgesteld aan de verontreinigingen. Dit testsysteem, bestaande uit een testvaatje met daarin een laagje sediment en daarboven water, wordt aangeduid als sediment/water-systeem.

Chironomus vormt een belangrijk bestanddeel van het voedselpakket van vissen en vogels. In een goed habitat is de biomassa-productie van *Chironomus* net zo hoog (20 tot 50 g/m²) als die van alle macro-evertebraten bij elkaar in het Waddengebied. Een verstoring van deze produktie door toxische stress, resulterend in een lager voedselaanbod, kan dus van grote ecologische betekenis zijn (van Urk & Kerkum, 1991; zie ook bijlage 13-I: algemene beschrijving).

B Bijzonderheden t.a.v. de uitvoering

De procedure voor uitvoering van deze test is uitvoerig beschreven in de "methodebeschrijving voor de beoordeling van verontreinigde waterbodems volgens de Triade-benadering" (Maas *et al.*, 1993). Hierna volgt een beknopte beschrijving van deze procedure.

Voor deze test wordt het benodigde sediment gezeefd over een 500 µm zeef. Met dit sediment wordt een mengsel aangemaakt bestaande uit 1 volumedeel sediment en 4 volumedelen Dutch Standar Water (DSW-medium). Na 24 uur schudden worden 4 testvaatjes gevuld met 50 ml van dit mengsel. Van het mengselrestant wordt na drie dagen bezinken het elutriaat gewonnen, waarmee drie testvaatjes tot ca. 100 ml worden gevuld. Per testvaatje met elutriaat werden *ad random* 2 halve eipakketten (≤ 2 dagen oud) van *Chironomus riparius* ingezet (of drie halve eipakketten in 2 testvaatjes). Na 4 dagen wordt beoordeeld of beide eipakketten zijn uitgekomen en worden de uitgekomen larven gevoerd met een 2% Trouvit-oplossing. Na 7 dagen worden uit het elutriaat individuen van het 2^e larvale stadium gehaald. Per testvaatje met sediment/DSW-mengsel worden 25 van deze larven ingezet. Drie maal per week wordt het bovenstaande water in de testvaatjes voorzichtig belucht en wordt gevoerd met een 2% Trouvit-oplossing. Na 28 dagen (21 dagen in het sediment/watersysteem) worden de larven voorzichtig over een zeef met een maaswijdte van 250 µm uitgespoeld. Het aantal larven wordt geteld en van alle 4^e stadium (L4) larven tezamen wordt vervolgens het drooggewicht bepaald. Hieruit wordt het gemiddelde drooggewicht per L4-larf afgeleid.

Naast de te beoordelen, verontreinigde sedimentmonsters dient tevens per getest sedimenttype (slib, zand of veen) een geschikt referentiemonster, bijvoorbeeld uit het gebied zelf, simultaan getest te worden. Indien deze niet beschikbaar is (zijn) dan kan als referentie voor de beoordeling van zandige sedimentmonsters sediment uit het Veluwemeer (zand) en voor slib sediment uit de vaargeul van het Drontermeer (slib) worden getest.

Met behulp van de ANOVA- en daarna bijvoorbeeld gevolgd door de post-hoc Bonferoni T-test wordt getoetst of de waarnemingen voor een van de volgende parameters significant ($P \leq 0,05$) verschillen van de bijbehorende referentie:

- sterfte (arcsin-, logit- of probit getransformeerde) aantal dode larven;

- larvale ontwikkeling (arcsin-, logit- of probit- getransformeerde Σ van het aantal L2, L3 en dode larven);
- drooggewicht van de L4-larven.

Hiervoor wordt echter eerst getoetst of voldaan wordt aan de eisen t.a.v. normaliteit en homogeniteit van varianties. Indien hieraan niet wordt voldaan (bij drooggewicht zelfs na transformatie niet), dan wordt voor het toetsen van verschillen gebruik gemaakt van een niet-parametrische methode (bijv. de 'Kruskal-Wallis'- test). Voor de statistische toetsingen kan bijvoorbeeld gebruik worden gemaakt van het SPSS-softwarepakket (Norusis, 1992).

C Randvoorwaarden

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 ₂ (mg/l)	Hardheid (mg CaCO ₃ /l)	NO ₂ ⁻ (mg/l)	NH ₄ ⁺ (mg/l)	NH ₃ (mg/l)	Cl ⁻ (g/l)	Geleidbaarheid (μS/mm)
elutriaat (0 ≤ t ≤ 7d)	5 - 9	≥ 3	≤ 600	≤ 20	≤ 32	≤ 1,2	≤ 1,25	≤ 300
bovenstaande water (7 ≤ t ≤ 28d)	5 - 9	≥ 3	≤ 600	≤ 20	≤ 32	≤ 1,2	≤ 5,5	≤ 1200

D Geldigheidscriteria

De volgende geldigheidscriteria zijn van toepassing:

- Er moeten worden voldaan aan de randvoorwaarden (zie C);
- Het sterftepercentage van de larven in het sediment/watersysteem van de referentie mag maximaal 10% bedragen (≤ 10);
- Meer dan 80% van de overlevende larven in het referentiesediment moet zich in L4-stadium of verder (pop of uitgevlogen) bevinden;
- Het gemiddelde drooggewicht per L4-larve moet in het referentiesediment minimaal 0,3 mg (> 0,3) bedragen;
- Wanneer een kwaliteitstest is uitgevoerd, dient het testresultaat binnen de in het protocol vermelde range te liggen (zie J).

E Beoordeling

Nadat gecontroleerd is of de uitgevoerde test aan de geldigheidscriteria voldoet, kunnen de resultaten van de test worden beoordeeld. Hiervoor zijn de in het onderstaande schema weergegeven 'Triade'-criteria beschikbaar (Maas *et al.*, 1993):

Waargenomen effect	classificatie	beoordeling effect
$\leq 10\%$ sterfte, <u>of</u> $\leq 10\%$ in stadium L2, L3 of dood <u>of</u> $< 10\%$ verschil in drooggewicht t.o.v. referentie*	-	géén
$> 10\%$ sterfte (en significant), <u>of</u> $> 10\%$ in stadium L2, L3 of dood (en significant) <u>of</u> $> 10\%$ verschil in drooggewicht t.o.v. referentie* (en significant)	+/-	matig
$\geq 50\%$ sterfte (en significant), <u>of</u> $\geq 50\%$ in stadium L2, L3 of dood (en significant) <u>of</u> $\geq 25\%$ verschil in drooggewicht t.o.v. referentie* (en significant)	+	ernstig

*: Het verschil in drooggewicht (DW) t.o.v. de referentie wordt als volgt berekend:
(gemiddeld DW monster) / (gemiddeld DW referentie) * 100% - 100%

De wijze waarop vervolgens kan worden beoordeeld of een actueel risico aannemelijk is, is weergegeven in paragraaf 7.1.1.

F Toepassingsgebied en periode

De chronische muggelarventest is bruikbaar voor de beoordeling van waterbodems en van stoffen, indien gemengd door de waterbodem ('gespiked' sediment, voor procedure zie Hill, 1993).

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

Voor stoftesten met *Chironomus riparius* in sediment/watersystemen zijn vrijwel geen specifieke toxiciteitdata beschikbaar. De meeste waarden die zijn gevonden (bijlage 15) 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*). Bovendien betreft het hier in vrijwel alle gevallen blootstelling van de organismen aan de betreffende stof opgelost in water zonder aanwezigheid van sediment. Om deze redenen moeten de toxiciteitwaarden, zoals weergegeven in bijlage 15, als indicatief worden gezien. In het algemeen kan echter worden gesteld dat *C. riparius* voor met name insecticiden zeer gevoelig is.

H Ervaring

Met deze gangbare Triade-techniek (Maas *et al.*, 1993) is in Nederland reeds positieve ervaring opgedaan bij de beoordeling van verontreinigde rijkswaterbodems. Ook is deze techniek reeds toegepast in het kader van Nader onderzoek in regionale wateren (zie bijlage 5).

I Beschikbaarheid en kosten

Deze test is niet commercieel beschikbaar als testkit, maar wordt wel door verschillende instanties in Nederland commercieel uitgevoerd.

In het volgende schema worden de kosten (uitvoeringstijd en verbruiksmateriaal) geraamd voor het testen van ca. 3 monsters en 1 referentie met 4 replica's per monster.

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 chronische muggelarventest ook een kweekruimte (belichting en constante temperatuur) nodig.

J Aandachtspunten

Ter controle van de gevoeligheid van *Chironomus riparius* wordt periodiek een acute test (96 uur) in DSW uitgevoerd waarbij L2-larven worden blootgesteld aan kaliumdichromaat ($K_2Cr_2O_7$) of aan 3,4-DCA. De waarde voor de LC_{50} van kaliumdichromaat dient binnen de range van 20 tot 75 mg/l te liggen en voor 3,4-DCA binnen de range van 4 tot 12,5 mg/l (Maas *et al.*, 1993).

K Referenties

(zie de literatuurlijst voor de volledige referenties)

Hill, 1993; Maas *et al.*, 1993; Norusis, 1992; van Urk & Kerkum, 1991

Bijlage 12. Bioaccumulatietest

I. Oligochaeten bioaccumulatietest

A Algemene beschrijving

De bioaccumulatietest wordt uitgevoerd met via de aquariumhandel verkregen oligochaeten⁹ volgens de RIZA-methode (Maas *et al.*, 1993). Een sedimentmonster wordt eerst een tijd door middel van schudden gemengd met een gestandaardiseerd (schoon) watermedium. Na bezinken van het sediment worden de oligochaeten geïntroduceerd in het sediment/watersysteem. De oligochaeten graven zich vervolgens in het sediment in en worden aldus gedurende 28 dagen blootgesteld aan de verontreinigingen. De concentraties van de in de organismen opgehoopte toxicanten worden bepaald zowel aan het begin (nog niet blootgestelde organismen) als aan het einde van de test. Vervolgens wordt het gehalte in het organisme gedeeld door het gehalte in het sediment. Op deze wijze worden de zogenaamde 'biota-sediment-accumulatiefactoren' (BSAF's) berekend. Deze gemeten BSAF's worden vergeleken met de voorspelde BSAF op basis van de evenwicht-partitietheorie (zie 6.2.1). Op basis hiervan kan een uitspraak worden gedaan over de biologische beschikbaarheid.

Verder worden de interne gehalten van een aantal stoffen vergeleken met de beschikbare Maximum Toelaatbaar Risico (MTR)-criteria. Wanneer deze criteria worden overschreden, dan bestaat er voor de betreffende stof een doorvergiftigingsrisico voor predatoren: de consumptie van deze, verontreinigde oligochaeten kan leiden tot negatieve effecten bij organismen hoger in de voedselketen. Met nadruk moet hier echter worden gesteld dat het om een *risicoschatting* gaat omdat het lastig is om uit te maken of, en hoeveel van de verontreinigde oligochaeten daadwerkelijk worden geconsumeerd.

In verschillende habitats vormen de oligochaeten in aantal de belangrijkste diergroep. Soorten met een korte ontwikkelingstijd komen ondanks een lage biomassa per individu tot een (zeer) hoge biomassa-productie. In diverse milieus vormen oligochaeten een belangrijke schakel in de productie van dierlijk materiaal (Verdonschot, 1979; zie ook bijlage 13-I: algemene beschrijving).

B Bijzonderheden t.a.v. de uitvoering

De procedure voor uitvoering van deze test is uitvoerig beschreven in de "methodebeschrijving voor de beoordeling van verontreinigde waterbodems volgens de Triade-benadering" (Maas *et al.*, 1993). Hierna volgt een korte beschrijving van deze procedure.

Voor deze test wordt de benodigde hoeveelheid sediment gezeefd over een 500 µm zeef. Met dit gezeefde sediment wordt een mengsel aangemaakt bestaande uit 1 volumedeel (nat) sediment en 4 volumedelen Dutch Standard Water. Dit mengsel wordt gedurende 24 uur geschud. Na het schudden wordt het mengsel uitgeschonken in bijvoorkeur twee glazen aquaria (replica's) van 5 liter. Tijdens het bezinken (2 dagen, bij 20 ± 2°C) wordt het water matig belucht. Na het bezinken wordt aan ieder aquarium ca. 20 gram (natgewicht) levende oligochaetenmassa toegevoegd. Voor het bepalen van de stoffenconcentraties in de oligochaeten aan het begin van de test (uitgangsmateriaal) wordt eenzelfde hoeveelheid oligochaetenmassa direct ingevroren.

⁹ In een steekproef werden de volgende soorten aangetroffen: *Limnodrilus claparedeianus* (Tubificidae), *Pristina idrensis* en *Homochaeta naidina* (Naididae) en *Lumbriculus intellus* (Lumbricidae). Al deze soorten worden ook in Nederlandse binnenwateren aangetroffen (AquaSense, 1993).

De gebruikte oligochaeten zijn afkomstig van een dierenpeciaalzaak, waar ze worden verhandeld als visvoer onder de naam 'Tubifex'. Ter conditionering worden deze organismen 1 week vóór het inzetten in een doorstroomsysteem gehouden waarin ze worden schoongespoeld. Tijdens deze conditionering worden de dieren drie keer gevoerd door per keer, per 150 g nat gewicht aan oligochaeten, 10 ml van een 10% Trouvit-suspensie toe te voegen. De oligochaeten worden 1 dag voor het inzetten van de test in een schone bak overgebracht voor opschoning (uitscheiding van de darminhoud).

De bioaccumulatietest wordt in afgedekte aquaria, bijvoorkeur in het donker (om fotodegradatie tegen te gaan) uitgevoerd bij een temperatuur van $20 \pm 2^\circ\text{C}$. De verdampte hoeveelheid water wordt eenmaal per week aangevuld. Als voer voor de oligochaeten wordt aan ieder aquarium driemaal per week, 1 ml van een 10% Trouvit-oplossing toegevoegd. Na 28 dagen wordt de test beëindigd. Ter verzameling van de oligochaeten wordt de inhoud van de testbakken met behulp van leidingwater over een $300\ \mu\text{m}$ zeef gespoeld. De op het zeef achtergebleven oligochaetenmassa wordt nogmaals gezeefd met een combinatie van een 500 en $300\ \mu\text{m}$ zeef, waardoor een verdere opschoning van de oligochaeten plaatsvindt. De oligochaetenmassa wordt daarna ingevroren.

Het uitgangsmateriaal, en het materiaal na 28 dagen blootstelling, wordt vanuit ingevroren toestand gevriesdroogd en tenslotte door een Sterlab-gecertificeerd milieulaboratorium geanalyseerd. Hier worden bijvoorkeur de volgende parameters geanalyseerd en uitgedrukt in mg/kg (vries)droge stof:

- Vetgehalte;
- Metalen: Cd, Cr, Cu, Ni, Pb, Zn, As en Hg;
- PAK's: 16 van EPA;
- PCB's: 28, 52, 101, 118, 138, 153 en 180;
- OCB's (o.a. DDT en HCB).

Hierbij worden bijvoorkeur zo laag mogelijke detectielimieten gerealiseerd (voor zover haalbaar vanwege de geringe hoeveelheid biomassa).

Op basis van de chemische analyseresultaten wordt voor de toxicanten waarvoor een duidelijk toename ($\geq 30\%$) in gehalte ten opzichte van de beginsituatie is waargenomen (zie J: aandachtspunten) de zogenaamde biota-sedimentaccumulatie-factoren berekend (BSAF's) op de wijze zoals beschreven door den Besten (1996). Voor metalen worden deze berekend als de verhouding tussen de gehalten in de oligochaeten en het sediment (beide op basis van drooggewicht). Voor de organische microverontreinigingen worden deze berekend als de verhouding tussen de gehalten in de oligochaeten op vetbasis en het gehalte in sediment op basis van organisch koolstof.

C Randvoorwaarden

Voor een aantal fysisch-chemische parameters staan de waarden, waarbij tijdens de bioaccumulatietest géén negatieve invloed op oligochaeten wordt verwacht (de zogenaamde randvoorwaarden), vermeld in de volgende tabel (Maas *et al.*, 1993):

pH	O ₂ (mg/l)	NO ₂ ⁻ (mg/l)	NH ₄ ⁺ (mg/l)	NH ₃ (mg/l)	Cl ⁻ (g/l)	Geleidbaarheid ($\mu\text{S}/\text{mm}$)
5 - 9	≥ 0	niet bekend	≤ 110	$\leq 1,3$	≤ 3	≤ 750

D Geldigheidscriteria

Als geldigheids criterium voor deze test geldt dat voldaan moet worden aan de randvoorwaarden (zie C).

E Beoordelingscriteria

Voor de beoordeling van de biologische beschikbaarheid van stoffen op basis van de resultaten van bioaccumulatietesten kan gebruik worden gemaakt van de volgende criteria (mededeling P. den Besten, RIZA in AquaSense, 1997):

criteria:	beoordeling biologische beschikbaarheid:
$G/V < 1$	niet verhoogd
$1 \leq G/V < 10$	verhoogd
$G/V \geq 10$	sterk verhoogd

waarbij:

G = Gemeten biota-sedimentaccumulatiefactor (BSAF, zie B);

V = Voorspelde BSAF op basis van de evenwicht-partitie theorie (zie ook den Besten, 1996).

Voor een aantal stoffen zijn Maximum Toelaatbaar Risico (MTR)-criteria beschikbaar (den Besten, 1996). Wanneer deze criteria worden overschreden, dan bestaat er voor de betreffende stof een doorvergiftigingsrisico (in dit geval voor predatoren). Deze criteria zijn (FW = versgewicht):

stof:	Hg	Cd	PCB-153*	Heptachloor	trans- Heptachloor-epoxide	p,p-DDE	p,p-DDD
criterium: (mg/kg FW)	0,01	0,01	0,011	0,125	0,300	0,021	0,015

stof:	o,p-DDT	p,p-DDT	beta-HCH	gamma-HCH	HCB	Dieldrin	Endrin
criterium: (mg/kg FW)	0,693	0,029	8,700	0,022	0,069	0,039	0,018

*: PCB-153 als gidsstof voor PCB's met dioxine-achtige werking (indicator voor TCDD-equivalenten)

F Toepassingsgebied en periode

De bioaccumulatietest met oligochaeten is bruikbaar voor de beoordeling van waterbodems en van stoffen, indien gemengd door de waterbodem ('gespiked' sediment, voor procedure zie Hill, 1993).

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 gevoeligheid van deze techniek is gelijk aan de chemische detectielimiet voor het betreffende stoffen.

Het is mogelijk dat aan het einde van de bioaccumulatietest te weinig biomassa beschikbaar is voor de uitvoering van de gewenste chemische analyses of voor het kunnen realiseren van een voldoende lage detectielimiet (zie J: aandachtspunten). Alhoewel deze techniek niet is gericht op het meten van toxische effecten, wordt hierna toch een lijst met beschikbare toxiciteitdata opgenomen, zodat een indicatie kan worden verkregen of de verontreinigingen in dit geval

mogelijk in toxische concentraties aanwezig waren, en aldus verantwoordelijk zijn voor de lage biomassa (hoe dit wordt beoordeeld staat beschreven in 7.1.3).

CAS-nr.	Stoffen	Gevonden Bijzonderheden (µg/l)	Bron
-	Cadmium	158 <i>Lumbriculus variegatus</i> , 10d LC50	[1]
-	Koper	35 <i>Lumbriculus variegatus</i> , 10d LC50	[1]
-	Kwik	100 <i>Lumbriculus variegatus</i> , 4d LC50	[2]
-	Lood	794 <i>Lumbriculus variegatus</i> , 10d LC50	[1]
-	Nikkel	12160 <i>Lumbriculus variegatus</i> , 10d LC50	[1]
-	Zink	2984 <i>Lumbriculus variegatus</i> , 10d LC50	[1]
118-74-1	Hexachloorbenzeen	≥ 4.7 <i>Lumbriculus variegatus</i> , 49d NOECgroei en reproductie	[1]
309-00-2	Aldrin	4000 <i>Branchiura sowerbyi</i> , 3d LC100	[2]
60-57-1	Dieldrin	4000 <i>Branchiura sowerbyi</i> , 3d LC100	[2]
72-20-8	Endrin	4000 <i>Branchiura sowerbyi</i> , 3d LC100	[2]
50-29-3	DDT	200 <i>Oligochaeta</i> , 2d LC100	[2]
72-55-9	DDE	>3.3 <i>Lumbriculus variegatus</i> , 10d LC50	[1]
58-89-9	gamma-HCH (lindaan)	3150 <i>Tubifex</i> + <i>Limnodrilus</i> , 4d LD50	[2]
76-44-8	Heptachloor	1100 <i>Tubifex tubifex</i> , 2d LC50	[2]
1024-57-3	Heptachloorepoxide	>10000 <i>Tubifex tubifex</i> , 2d LC50	[2]

Bronnen:

- [1] Ingersoll *et al.*, 1995;
[2] Murphy & Balogh, 1993.

H Ervaring

Met deze gangbare Triade-techniek (Maas *et al.*, 1993) is in Nederland reeds positieve ervaring opgedaan bij de beoordeling van verontreinigde rijkswaterbodems.

I Beschikbaarheid en kosten

Deze test is niet commercieel beschikbaar als testkit, maar wordt wel door verschillende instanties in Nederland commercieel uitgevoerd.

In het volgende schema worden de kosten (uitvoeringstijd en verbruiksmateriaal) geraamd voor het testen van 1 monster met 2 replica's per monster.

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 de kosten voor chemische analyse van de oligochaeten;

**: Inclusief voorbereiding, uitvoering, dataverwerking en rapportage.

Naast verbruiksmateriaal is voor de uitvoering van de bioaccumulatietest ook een geklimatiseerde ruimte (constante temperatuur) nodig.

- Het is mogelijk dat voor een deel van de geanalyseerde stoffen het gehalte in de oligochaeten aan het begin van de test (uitgangsmateriaal) hoger is dan aan het einde van de test. Dit betekent dat de oligochaeten (een deel) van de stoffen zijn kwijt geraakt en/of dat de stoffen zijn verdund in de organismen. Dit kan bijvoorbeeld doordat de opgenomen hoeveelheid per organisme gelijk is gebleven, maar het drooggewicht (in geval van metalen) of het vetgehalte (in geval van de overige stoffen) is toegenomen. Dit proces wordt ook wel groeiverdunning genoemd. Voor deze stoffen is het zeer lastig om uitspraken te doen over de biologische beschikbaarheid en/of eventuele doorvergiftigingsrisico's. Derhalve worden alleen die stoffen verder beoordeeld waarvoor een duidelijke toename in gehalte ($\geq 30\%$) t.o.v. de uitgangssituatie is waargenomen (AquaSense, 1997);
- De eerste ervaringen met opschoning van oligochaeten door ze gedurende 1 maand in 'schoon' sediment te houden zijn positief: de gehalten in het uitgangsmateriaal zijn hierdoor aanzienlijk lager (niet gepubliceerde resultaten AquaSense);
- Het is mogelijk dat aan het einde van de bioaccumulatietest te weinig biomassa beschikbaar is voor de uitvoering van de gewenste chemische analyses of voor het kunnen realiseren van een voldoende lage detectielimiet. Dit kan het gevolg zijn van een te hoge toxiciteit van het beoordeelde sediment, waardoor de oligochaeten dood gaan (zie G: gevoeligheid);
- Het nadeel van de huidige methode is dat gewerkt wordt met oligochaeten die worden verkregen via de aquariumhandel. Aangezien hier meestal niets bekend is over de historie of herkomst van de organismen, en ook de samenstelling per batch kan verschillen, ontbreekt dus inzicht in de kwaliteit. Met name het inzicht in de interne gehalten van de organismen bij aanvang van de test ontbreekt. Door de dieren een week voor gebruik 'schoon' te spoelen in schoon water (zie B) wordt getracht om deze interne gehalten zo laag mogelijk te krijgen. (Kosten)technisch is het vrijwel onmogelijk om reeds voor het inzetten van de test te kunnen beschikken over het analyseresultaat van het uitgangsmateriaal. Pas aan het einde van de test is dit inzicht beschikbaar en dan kan blijken dat voor een aantal stoffen het interne gehalte gelijk of zelfs lager is dan in het uitgangsmateriaal. De biologische beschikbaarheid en doorvergiftigingsrisico's zijn dan ook niet of nauwelijks te beoordelen voor de betreffende stoffen. Dit probleem zou echter grotendeels kunnen worden opgelost door uit te gaan van in het laboratorium gekweekte organismen en dan bij voorkeur van één soort. Goede ervaringen bestaan er bijvoorbeeld met de soort *Lumbriculus variegatus* (zie Phipps *et al.*, 1992). Deze soort is ecologisch relevant, komt voor in Europa en in de Verenigde Staten, bewoont diverse sedimenttypen (slibbige en zandige sedimenten, 2 tot 60 m diep, in stilstaande wateren, rivieren, meren, plassen en moerassen), is tolerant voor temperatuur-, zuurstof- en pH-schommelingen en er bestaat voor deze soort ook reeds een gestandaardiseerd protocol voor uitvoering van (acute) toxiciteitstesten. Het voordeel hiervan is weer dat er relatief veel toxiciteitsgegevens ($LC_{50, 10d}$) beschikbaar zijn (zie G) voor deze soort. Het nadeel van het werken met gekweekte oligochaeten is echter dat de kweekkosten doortellen in de kosten van de bioaccumulatietest en de test daardoor (aanzienlijk) duurder wordt. Verder zal de mogelijkheid van het werken met gekweekte organismen eerst verder moeten worden onderzocht en gevalideerd.

(zie de literatuurlijst voor de volledige referenties)

AquaSense, 1993b; AquaSense, 1997; den Besten, 1996; Hill, 1993; Ingersoll *et al.*, 1995; Maas *et al.*, 1993; Murphy & Balogh, 1993; Phipps *et al.*, 1992

Bijlage 13. Veldinventarisatie

I. Totale dichtheid en aantal soorten chironomiden en oligochaeten

A Algemene beschrijving

De ecologische kwaliteit van waterbodems kan worden afgemeten aan het voorkomen en de abundantie van flora en fauna in relatie tot fysische en chemische omgevingsfactoren. Het meest betrouwbaar voor het bepalen van de ecologische kwaliteit zijn die veldparameters die gebaseerd zijn op het voorkomen en de dichtheid van algemeen voorkomende, weinig mobiele macrofaunasoorten. Vanwege het relatief grote aantal toxiciteitsgegevens zijn vooral chironomidenlarven en oligochaeten bijzonder indicatief (van de Guchte, 1992). Uitgaande van grote taxonomische groepen, bestaat er op dit moment voor de volgende veldparameters voldoende vertrouwen in een relatie tussen de hoogte van parameter en de mate van toxische stress (Reinhold-Dudok van Heel & den Besten, *in prep.*):

- Totale dichtheid chironomiden (en het aantal soorten);
- Totale dichtheid oligochaeten (en het aantal soorten);

Hierbij dient te worden aangetekend dat het hierbij gaat om door de Rijn en Maas beïnvloede sedimentatiegebieden. Voor deze parameters is het aannemelijk dat ze een beeld geven van de ecologische waterbodempkwaliteit. Ook zijn hiervoor reeds beoordelingscriteria afgeleid (zie E) voor verschillende habitats, ingedeeld op basis van bodemkarakteristieken (den Besten *et al.*, 1995; den Besten, 1997). Zolang de bodemkarakteristieken (habitat) overeenkomen, lijken deze parameters, en de daarvoor beschikbare beoordelingscriteria, ook bruikbaar voor de beoordeling van verontreinigde regionale waterbodems.

Voor andere veldparameters zijn op dit moment nog te weinig basale gegevens beschikbaar om een relatie aannemelijk te kunnen maken tussen de abundantie en de mate van toxische stress en om daar dus reeds 'harde' beoordelingscriteria aan te kunnen verbinden. Om meer inzicht in deze relatie te krijgen wordt echter sterk aanbevolen om ook deze veldparameters te beoordelen. Veelbelovende parameters voor de beoordeling van de ecologische kwaliteit zijn mogelijk de volgende, omdat deze betrekking hebben op organismen die voor bepaalde toxicanten gevoeliger zijn dan chironomiden en oligochaeten:

- Som aantal soorten haften, steenvliegen en kokerjuffers;
- Aantal soorten en totale dichtheid bivalven.

Indien het budget of de beschikbare taxonomische expertise het niet toelaat om de organismen tot op soort te determineren, of om de twee laatste 'aanbevolen' veldparameters te beoordelen, verdient het aanbeveling om de reeds verzamelde macrofauna (t.b.v. de eerste twee parameters) per monster apart te conserveren, te documenteren en te bewaren. Deze monsters kunnen dan later alsnog worden gedetermineerd en verwerkt. Het is immers zonde om deze informatie zomaar weg te gooien temeer daar voor de betreffende locaties altijd fysisch/chemische analyseresultaten beschikbaar zijn.

De meeste Nederlandse wateren zijn eutroof tot hypertroof. Deze organische verontreiniging levert een verhoogd voedselaanbod, waardoor voor resistente organismen een gunstig habitat (o.a. door slibophoping) ontstaat (de Pauw & Vannevel, 1991). In het fijne (slibbige) sediment van dit soort wateren zijn *Chironomidae* (Dans- of Vedermuggen) met als begeleidende soorten oligochaeten (wormen) van het genus *Limnodrilus* dominant aanwezig (van Urk & Kerkum, 1991; AquaSense, 1993a). Met name *Chironomidae* uit het genus *Chironomus* komen daardoor in vrijwel alle watertypen voor (de Pauw & Vannevel, 1991; Moller Pillot & Buskens, 1990).

Geschikte habitats voor *Chironomus* zijn bodemsituaties met een intensieve afbraak (organisch verontreinigde wateren). Alleen op locaties waar het water te hard stroomt, of de trofische status laag is, wordt *Chironomus* niet of nauwelijks aangetroffen. De larven van dit genus overwinteren vooral in het derde en vierde larvale stadium. Het wel of niet voorkomen en de dichtheid van

larven van dit genus wordt naast de bodemkarakteristieken mede bepaald door toxische stress (van Urk & Kerkum, 1991). Een scherpe grens tussen beide factoren is echter niet te trekken. *Chironomus* vormt een belangrijk bestanddeel van het voedselpakket van vissen en vogels. In een goed habitat is de biomassaproductie van *Chironomus* net zo hoog (20 tot 50 g/m²) als die van alle macro-evertebraten bij elkaar in het Waddengebied. Een verstoring van deze productie door toxische stress, resulterend in een lager voedselaanbod, kan dus van grote ecologische betekenis zijn (van Urk & Kerkum, 1991).

Zoals gezegd komen oligochaeten vooral in organisch belaste wateren in hoge dichtheden voor. Het betreft dan vooral soorten als *Limnodrilus hoffmeisteri* en *Tubifex tubifex* (Milbrink, 1983). Bij de beoordeling van verontreinigde waterbodems is de abundantie van verschillende soorten oligochaeten belangrijker dan de aan- of afwezigheid (Verdonschot, 1979). In verschillende habitats vormen de oligochaeten in aantal de belangrijkste diergroep. Soorten met een korte ontwikkelingstijd komen ondanks een lage biomassa per individu tot een (zeer) hoge biomassaproductie. Zo is voor *Lumbriculus lineatus* (Tubificidae) een gemiddelde jaarproductie van 300 tot 540 g/m² bekend. In diverse milieus vormen oligochaeten een belangrijke schakel in de productie van dierlijk materiaal (Verdonschot, 1979). Een verstoring van deze productie door toxische stress kan dus resulteren in een verminderd voedselaanbod voor predatoren en zo van grote ecologische betekenis zijn. Verder is het ook hier niet mogelijk om een scherpe grens te trekken tussen de invloed van omgevingsfactoren en toxische stress.

B Bijzonderheden t.a.v. de uitvoering

De per sublocatie genomen en over 500 µm gezeefde bodemhappen (zie bijlage 7 en 8) worden in het laboratorium verder uitgezocht op een lichtbak. De organismen worden hierbij gescheiden van het overige (organische) materiaal (steentjes, detritus e.d.). Van de verzamelde organismen worden in elke geval de oligochaeten en chironomiden, maar bijvoorkeur ook de overige organismen, per hap apart gedetermineerd tot op het laagst haalbare taxonomische niveau. Hierbij wordt bijvoorkeur gebruik gemaakt van de aanbevolen literatuur voor de biologische monitoring van zoete rijkswateren met een aantal aanvullingen, betreffende de taxa Oligochaeta, Chironomidae en Ephemeroptera (zie K, referenties). Determinaties worden zoveel mogelijk uitgevoerd met behulp van een zoom (stereo)microscop. Om de oligochaeten te kunnen determineren worden deze opgehelderd in levulosesiroop (50% melkzuur en 50% glucose) en geprepareerd.

Na determinatie van de macrofauna worden, per bodemhap apart en gemiddeld over alle happen samen, de gevonden aantallen o.b.v. het bemonsterde oppervlakte omgerekend naar dichtheden (aantal individuen per m²) per soort of soortgroep. Ook wordt het aantal soorten per groep gerapporteerd.

C Randvoorwaarden

Het voorkomen van macrofauna is, naast de aanwezigheid van verontreinigende stoffen, vooral afhankelijk van de lokale bodemkarakteristieken. Naast de genoemde karakteristieken in bijlage 9 (organische stof, korrelgroottefracties, vochtgehalte, K_s- en r²-waarde) zijn hierbij ook zaken als watertype (trofiegraad), stroomsnelheid, dimensie (diepte), chloridegehalte en ammonium/ammoniak (zie randvoorwaarden *C. riparius* en Oligochaeten in respectievelijk bijlage 11-II en 12) van belang (zie Maas *et al.* 1993). Ook dient rekening te worden gehouden met de mogelijkheid dat (bepaalde delen van) de onderzochte locatie periodiek droog kan vallen. Voor de interpretatie van de veldinventarisatiegegevens is derhalve een goed inzicht in deze factoren gewenst. De exacte invloed van deze factoren is echter nog niet gekwantificeerd, zodat hiervoor nog geen criteria kunnen worden opgesteld voor grenzen vanaf waar invloed wordt verwacht (randvoorwaarden).

Bij het relateren van waargenomen effecten aan de mate van verontreiniging is een grondig inzicht in deze factoren minder noodzakelijk indien een geschikte referentielocatie uit het gebied zelf simultaan is beoordeeld (zie E).

D Geldigheidscriteria

Er zijn geen specifieke geldigheidscriteria van toepassing op de resultaten van een veldinventarisatie.

E Beoordeling

Geschikte lokale referentie simultaan beoordeeld

Indien voor minimaal één van de geanalyseerde veldparameters met een geschikte statistische methode (bijv. verdelingsvrije rangsomtoets) kan worden aangetoond dat deze significant 'slechter' is dan de referentie, dan is het waarschijnlijk dat er een negatieve relatie bestaat tussen de mate van verontreiniging en de kwaliteit van de aanwezige waterbodemp gemeenschap. Een actueel risico is in dat geval aannemelijk als gevolg van de aanwezige verontreinigingen.

Geen geschikte lokale referentie beschikbaar

Voor door de Rijn en Maas beïnvloede sedimentatiegebieden zijn beoordelingscriteria afgeleid voor verschillende habitats, ingedeeld op basis van bodemkarakteristieken (den Besten *et al.*, 1995; den Besten, 1997). Zolang de bodemkarakteristieken (habitat) overeenkomen, kunnen deze parameters, en de daarvoor beschikbare beoordelingscriteria, indicatief worden gebruikt voor de beoordeling van verontreinigde regionale waterbodems (oordeel: '+' = ernstig effect, '+/-' = matig effect en '-' = geen effect):

Parameter	Bodemkarakteristieken (voor codes zie onder tabel)							Oordeel
	1	2	3	4	5	6	7	
Aantal soorten	0-4	0-4	0-2	0-2	0-4	0	0-2	+
Chironomiden	5-10 ≥11	5-10 ≥11	3-5 ≥6	3-7 ≥8	5-7 ≥8	1-3 ≥4	3-6 ≥7	+/- -
Dichtheid	< 500	< 500	< 100	< 100	< 100	< 100	< 100	+
Chironomiden	500-1500 ≥1500	500-1500 ≥1500	100-500 ≥500	100-1500 ≥1500	100-500 ≥500	100-500 ≥500	100-500 ≥500	+/- -
Aantal soorten	0-4	0-4	0-2	0-2	0-2	0-2	0-2	+
Oligochaeten	5-9 ≥10	5-9 ≥10	3-5 ≥6	3-7 ≥8	3-4 ≥5	3-4 ≥5	3-4 ≥5	+/- -
Dichtheid	< 300	< 300	< 300	< 300	< 200	< 50	< 200	+
Oligochaeten	300-1000 ≥1000	300-1000 ≥1000	300-1000 ≥1000	300-1000 ≥1000	200-1000 ≥1000	50-200 ≥200	200-1000 ≥1000	+/- -
Aantal soorten	0-3	0-3	0-2	0-2	0-3	0-5	0-3	+
Bivalven	4-8 ≥9	4-6 ≥7	3-5 ≥6	3-5 ≥6	4-8 ≥9	6-9 ≥10	4-6 ≥7	+/- -
Dichtheid	< 200	< 200	< 5	< 5	< 200	< 700	< 200	+
Bivalven	200-800 ≥800	200-800 ≥800	5-100 ≥100	5-100 ≥100	200-1000 ≥1000	700-2000 ≥2000	200-1000 ≥1000	+/- -
Σ # soorten Haften, Steenvliegen en Kokerjuffers	0 1-2 ≥3	niet toepasbaar	niet toepasbaar	0* 1-2* ≥3*	0 1-2 ≥3	niet toepasbaar	niet toepasbaar	+ +/- -

*: alleen toepasbaar voor ondiepe zones

Code	Bodemkarakteristieken (voor indeling zie bijlage 9)	Diepte
Slibhoudend sediment		
1	Stabiel (gelaagd), slibbig zand of zandig slib	ondiep
2	Stabiel (gelaagd) slibbig zand of zandig slib	diep
3	Onstabiel, slibbig zand of zandig slib in gebieden met veel dynamiek	diep/ondiep
4	Onstabiel, slibbig zand of zandig slib in gebieden met weinig dynamiek	diep/ondiep
Zand		
5	Zand (fijn of matig grof)	ondiep
6	Zand (grof) in stroomgeul	diep
7	Zand (fijn of matig grof)	diep

De wijze waarop vervolgens kan worden beoordeeld of een actueel risico aannemelijk is, is weergegeven in paragraaf 7.1.1.

F Toepassingsgebied en periode

Veldinventarisatietechnieken kunnen in verband met het uitvliegen van muggen niet worden uitgevoerd in de periode van begin april tot eind oktober (Maas *et al.*, 1993).

In verband met de kans op het aantreffen van haften wordt aanbevolen om de bemonstering uit te voeren in het voorjaar (maart - begin april) in plaats van in het najaar, omdat haften zich in het najaar in het eistadium (< 500 µm) bevinden en daardoor mogelijk niet worden aangetroffen (AquaSense, 1997).

G Gevoeligheid

Er is tot nu toe nog weinig bekend over de relatie tussen de relatieve en absolute abundantie van waterbodemonorganismen en specifieke toxische stoffen. Wel zijn er relaties vastgesteld met de algehele verontreinigingsgraad van sediment (zie 5.3.3 en 6.4).

H Ervaring

Met deze gangbare Triade-techniek (Maas *et al.*, 1993) is in Nederland reeds positieve ervaring opgedaan bij de beoordeling van verontreinigde rijkswaterbodems. Ook is deze techniek reeds toegepast in het kader van Nader onderzoek in regionale wateren (zie bijlage 5).

I Beschikbaarheid en kosten

Zowel de bemonstering als de determinatie van macrofauna wordt door verschillende instanties in Nederland commercieel uitgevoerd.

In het volgende schema worden de kosten (uitvoeringstijd en verbruiksmateriaal) geraamd voor het verwerken van de monsters van 1 verontreinigde en 1 referentielocatie met 5 hapten per locatie (totaal 10 hapten):

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 (determinatie van alle aanwezige macrofauna per hap apart), dataverwerking en rapportage.

J Aandachtspunten

Voor een betrouwbare bemonstering van macrofauna kan waarschijnlijk het beste met steekbuizen worden bemonsterd (zie bijlage 7: monsternamen).

K Referenties

Aangehaalde literatuur

(zie de literatuurlijst voor de volledige referenties)

AquaSense, 1993a, den Besten *et al.*, 1995; den Besten, 1997; van de Guchte, 1992; Milbrink, 1983; Moller Pillot & Buskens, 1990; de Pauw & Vannevel, 1991; Reinhold-Dudok van Heel & den Besten, *in prep.*; van Urk & Kerkum, 1991; Verdonschot, 1979.

Aanbevolen determinatieliteratuur macrofauna (zie B: bijzonderheden t.a.v. de uitvoering)

Algemene literatuur

IAWM, 1984. Handleiding voor hydrobiologische milieu-inventarisatie. 1-61.

Mol, A.W.M., 1984. Limnofauna Neerlandica. Een lijst van meercellige ongewervelde dieren aangetroffen in binnenwateren van Nederland. Nieuwsbrief E.I.S. 15: 1-124.

Pauw, N. de. & R. Vannevel (eds.), 1991. Macroinvertebraten en waterkwaliteit. Determineersleutels voor zoetwater macroinvertebraten en methoden ter bepaling van de waterkwaliteit. Dossier Stichting Leefmilieu i.s.m. Jeugdbond voor Natuurstudie en Milieubescherming. 1-316.

Bloedzuigers

Cuppen, J.G.M., 1994. Life cycle and habitat of *Glossiphonia paludosa* (Hirudinea: Glossiphoniidae), a new leech for the Netherlands. Netherlands Journal of Aquatic Ecology 28 (2) : 193-197.

Dresscher, Th.G.N. & L.W.G. Higler, 1982. De Nederlandse bloedzuigers. Hirudinea. Wet. Meded. KNNV 154: 1-64. Hoogwoud.

Elliott, J.M. & K.H. Mann, 1979. A key to the British freshwater leeches with notes on their life cycles and ecology. Fresh. Biol. Assoc. Sc. Publ. 40: 1-72.

Borstelwormen

Brinkhurst, R.O., 1971. A Guide for Identification of British Aquatic Oligochaeta. Fresh. Biol. Assoc. Sc. Publ. 22: 1-55.

Brinkhurst, R.O. & B.G.M. Jamieson, 1971. The aquatic Oligochaeta of the world. 200-707. Oliver & Boyd, Edinburgh.

Brinkhurst, R.O., 1982. British and other marine and estuarine Oligochaetes. Synopses of the British Fauna 21: 1-127. Cambridge Univ. Press, Cambridge.

Lafont, M., 1983. Introduction pratique al la systemathique des organismes des eaux continentales Françaises 3: Annélides Oligochètes.

Michaelsen, W. & L. Johansson, 1909. 1. Oligochaeta. In: Oligochaeta und Hirudinea. Die Süßwasserfauna Deutschlands 13: 1-66. G. Fischer Verlag, Jena.

Sperber, C., 1950. A guide for the determination of European Naididae. Zool. Bidrag 29: 46-78. Almqvist & Wiksells Boktryckeri AB, Uppsala.

Verdonschot, P.F.M., 1979. Aquatische Oligochaeta, introductie. Rapporten en Verslagen 11: 1-45. Delta Instituut voor Hydrobiologisch Onderzoek, Yerseke.

Kreeftachtigen

Brink, F.W.B. van den & G. van der Velde, 1991. Slijkgarnalen (Crustacea: Amphipoda: Corophiidae) in Nederland. Het Zeepaard. 32-37.

Carausu, S., E. Dobreanu & C. Manolache, sine anno, sine loco. Cheie de determinare a speciilor si subspeciilor genului *Dikerogammarus*. 54-70.

Gledhill, T., D.W. Sutcliffe & W.D. Williams, 1976. Key to the British Freshwater Crustacea: Malacostraca. Fresh. Biol. Assoc. Sc. Publ. 32: 1-72.

Henry, J.P. & G. Magniez, 1983. Introduction pratique al la systemathique des organismes des eaux continentales françaises. 4: Crustacés Isopodes (principalement asellotes). Bulletin de la société linnéenne de Lyon 10: 319-357. Univ. de Dijon.

Pinkster, S. & D. Platvoet, 1986. De vlokreeften van het Nederlandse oppervlaktewater. Wet. Meded. KNNV 172: 1-44. Hoogwoud.

Tweevleugeligen

Klink, A., sine anno. Determinatietabel voor de poppen en larven der Nederlandse Tanytarsini. Deel 1: Algemene tabellen. 1-25.

Moller Pillot, H.K.M., 1984a. De larven der Nederlandse Chironomidae (Diptera). Inleiding, Tanypodinae & Chironomini. Ned. Faun. Meded. 1A: 1-277. EIS, Leiden.

Moller Pillot, H.K.M., 1984b. De larven der Nederlandse Chironomidae (Diptera). Orthoclaadiinae *sensu lato*. Ned. Faun. Meded. 1B: 1-175. EIS, Leiden.

Moller Pillot, H.K.M. *et al.*, 1994. Determinatietabel voor de larven van het genus *Glyptotendipes* in West-Europa (concept). 1-20. RIZA, Lelystad.

Vallenduuk, H.J., S.M. Wiersma, H.K.M. Moller Pillot & J.A. van der Velden, 1996. Determinatietabel voor larven van het genus *Chironomus* in Nederland. 1-34; 1 bijlage. RIZA, Lelystad.

Wiederholm, T. (ed.), 1983. Chironomidae of the Holarctic region. Keys and diagnoses. Part 1, Larvae. Ent. Scand. Suppl., 19: 1-457.

Waterkevers

Drost, M.B.P., H.P.J.J. Cuppen, E.J. van Nieukerken & M. Schreijer, 1992. De waterkevers van Nederland. Natuurhistorische Bibliotheek van de KNNV 55: 1-280. Utrecht.

Weekdieren

Bij de Vaate, A. (ed.), 1991. The Asiatic clam, *Corbicula fluminea* (Müller, 1774), a new immigrant in the River Rhine. Ecol. Herstel. Rijn rap. nr 34.

Geene, R., 1989. De Nederlandse zoetwaterslakken. 1-34. Jeugdbondsuitgeverij, Utrecht.

Glöer, P. & C. Meier-Brook & O. Ostermann., 1980 Süßwassermollusken. Deutscher Jugendbund für Naturbeobachtung. 2. Auflage.

Greijdanus-Klaas, M., 1993. Overzicht behandelde Mollusca taxa eerste macrofauna-expertdag . AOBL notitienr. 93-13

II. Kaakmisvormingen bij *Chironomus*-larven

A Algemene beschrijving

De vorm van de kaakdelen (mentum) van in het veld verzamelde *Chironomus*-larven worden onder de microscoop bestudeerd, waarna het percentage larven met misvormde kaken wordt beoordeeld. De misvormingen kunnen bestaan uit extra of juist verdwenen tanden, uit onregelmatig gevormde tandenrijen of uit zogenaamde 'Khoen gaps' (van Urk & Kerkum, 1991). (zie 5.3.3). In diverse onderzoeken is een duidelijke, positieve correlatie tussen het percentage misvormingen en de algehele verontreinigingsgraad aangetoond. Deze parameter is derhalve bruikbaar als indicator om de biologische beschikbaarheid van verontreinigingen te signaleren en om trends in deze beschikbaarheid te monitoren (bijvoorbeeld na sanering). Er zijn in laboratoriumstudies echter (nog) geen causale verbanden gevonden tussen het gehalte van specifieke toxicanten en het percentage kaakmisvormingen. Ook de ecologische betekenis van misvormingen is nog niet geheel opgehelderd (zie verder 5.3.3 en 6.4).

B Bijzonderheden t.a.v. de uitvoering

Na determinatie (zie bijlage 13-I) worden de *Chironomus*-larven uit de 5 happen per locatie bij elkaar gevoegd (gepooled) en vervolgens geanalyseerd op kaakmisvormingen. Hierbij wordt de methode gebruikt zoals beschreven in het Triade-protocol (Maas *et al.*, 1993).

Indien tenminste 100 larven zijn beoordeeld, dan kan de beoordeling direct worden gericht op het percentage misvormde larven (zie E). Indien minder dan 100, maar meer dan 56 larven¹⁰ zijn beoordeeld, dan wordt de beoordeling gericht op de Chi²-waarde die wordt berekend ten opzichte van een fictief monster met 100 larven en 9% misvorming. De procedure hiervoor is beschreven in het Triade-protocol (Maas *et al.*, 1993).

De resultaten worden bijvoorbeeld op de volgende wijze gerapporteerd:

Aantal larven				Totaal			Chi-kwadraat
gaaf	breuk	misvormd	misvormd + breuk	beoordeeld	misvormd	% misvormd	
76	40	5	2	123	7	5,7	0,478 (niet significant)

C Randvoorwaarden

Naast de aanwezigheid van verontreinigende stoffen spelen ook factoren als een lage temperatuur, zuurstofspanning, hoeveelheid organisch stof en fractie lutum een rol bij het voorkomen van kaakmisvormingen (van Urk & Kerkum, 1991; Grootelaar, 1993). De exacte invloed van deze factoren is echter nog niet gekwantificeerd, zodat hiervoor nog geen criteria kunnen worden opgesteld voor grenzen vanaf waar invloed wordt verwacht (randvoorwaarden). Bij het relateren van de kaakmisvormingen aan de mate van verontreiniging is een grondig inzicht in deze factoren minder noodzakelijk indien een geschikte referentielocatie uit het gebied zelf simultaan is beoordeeld (zie E).

¹⁰Een voorwaarde voor de Chi²-berekening is dat de verwachtingswaarde per klasse minimaal 5 moet zijn. Bij een verwachting dat 9% van de larven misvormd is, betekent dit dus dat minimaal 56 larven dienen te worden beoordeeld (5 misvormd en 51 normaal).

D Geldigheidscriteria

Er dienen per locatie (5 happen samen) minimaal 56 *Chironomus*-larven te worden beoordeeld en bijvoorkeur minimaal 100 larven.

Bij minder dan 56 larven kan het percentage misvormde larven alleen indicatief worden beoordeeld.

E Beoordeling

Nadat gecontroleerd is of de uitgevoerde techniek aan de geldigheidscriteria voldoet, kunnen de resultaten van de techniek worden beoordeeld. Hiervoor zijn de in het onderstaande schema weergegeven 'Triade'-criteria beschikbaar (Maas *et al.*, 1993). Deze criteria zijn afgeleid van normaal voorkomende waarden in schone slib- en veenbodems (zie F en AquaSense, 1993).

Waargenomen effect	classificatie	beoordeling effect
Bij ≥ 100 beoordeelde larven: $\leq 10\%$ misvormd Bij ≥ 56 maar < 100 beoordeelde larven : $\text{Chi}^2 \leq 7,446$	-	géén
Bij ≥ 100 beoordeelde larven: $> 10\%$ misvormd, Bij ≥ 56 maar < 100 beoordeelde larven : $\text{Chi}^2 > 7,446$	+/-	matig
Bij ≥ 100 beoordeelde larven: $> 20\%$ misvormd, Bij ≥ 56 maar < 100 beoordeelde larven : $\text{Chi}^2 > 11,479$	+	ernstig

De wijze waarop vervolgens kan worden beoordeeld of een actueel risico aannemelijk is, is weergegeven in paragraaf 7.1.1.

F Toepassingsgebied en periode

Deze veldinventarisatietechniek kan in verband met het uitvliegen van muggen niet worden uitgevoerd in de periode van begin april tot eind oktober (Maas *et al.*, 1993).

De bij E genoemde criteria zijn opgesteld voor door Rijn of Maas beïnvloede en relatief schone slib- en veenbodems, waar het percentage misvormingen de 10% grens niet overschrijdt (van Urk & Kerkum, 1991). Dit geldt zowel voor slib- als voor veenbodems (AquaSense, 1993). In zandige bodems komen te weinig *Chironomus*-larven voor (zie J: aandachtspunten) om een betrouwbaar beeld te kunnen krijgen van de normaalwaarden voor deze parameter (AquaSense, 1993).

G Gevoeligheid

Er is tot nu toe nog weinig bekend over de relatie tussen het percentage misvormingen en specifieke toxische stoffen. Wel zijn er relaties vastgesteld met de algehele verontreinigingsgraad van sediment (zie 5.3.3 en 6.4).

H Ervaring

Met deze gangbare Triade-techniek (Maas *et al.*, 1993) is in Nederland reeds positieve ervaring opgedaan bij de beoordeling van verontreinigde rijkswaterbodems. Ook is deze techniek reeds toegepast in het kader van Nader onderzoek in regionale wateren (zie bijlage 5).

I Beschikbaarheid en kosten

De beoordeling van kaakmisvormingen wordt door verschillende instanties in Nederland commercieel uitgevoerd.

In het volgende schema worden de kosten (uitvoeringstijd en verbruiksmateriaal) geraamd voor het beoordelen van 100 larven uit de monsters van 1 verontreinigde en 1 referentielocatie. Hierbij wordt er vanuit gegaan dat de *Chironomus*-larven reeds zijn uitgezocht en van 5 happen bij elkaar zijn gevoegd:

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 (determinatie van alle aanwezige macrofauna per hap apart), dataverwerking en rapportage.

J Aandachtspunten

Zandbodems zijn minder geschikt als habitat voor *Chironomus*-larven omdat deze larven hierin moeilijk woonbuisjes kunnen bouwen. Voor dergelijke bodems kan worden aanbevolen om (kaak- of glossa)misvormingen te bestuderen bij andere genera van muggelarven (zie 6.4). Hiervoor zijn echter nog geen 'normaalwaarden' en derhalve ook nog geen beoordelingscriteria beschikbaar. Indien een referentielocatie beschikbaar is kan wel statistisch worden getoetst of er ten opzichte van deze locatie een significant hoger percentage misvormingen kan worden waargenomen. In dat geval is het echter noodzakelijk om de misvormingen per bodemhap apart te noteren.

K Referenties

(zie de literatuurlijst voor de volledige referenties)

Aquasense, 1993; Grootelaar, 1993; Maas *et al.*, 1993; van Urk & Kerkum, 1991

Bijlage 14. Verhoging kosten-effectiviteit bioassays

I Bepaling optimale aantal replica's per testconcentratie ('power analyse')

De detectielimiet van een bioassay (de 'gevoeligheid') is direct afhankelijk van het aantal replica's, het aantal testorganismen 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 testorganismen 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 testorganismen 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 testresultaat en het gewenste verschil met de blanco dat gedetecteerd moet kunnen worden, kan het aantal hiervoor te gebruiken replica's worden geschat. 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;
- σ = standaarddeviatie van de betreffende parameter (in procenten);
- δ = 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 5 is uitgegaan van 2 groepen: de blancogroep en het te beoordelen monster);
- α = significantieniveau, de kans op een vals negatieve waarneming (meestal 0,05, zie tekst);
- 1-p = β = significantieniveau, de kans op een vals positieve waarneming (meestal 0,20 zie tekst);
- $t_{\alpha[v]}$ en $t_{2(1-p)[v]}$ = testgrootheden afkomstig uit een tweezijdige t-tabel met v vrijheidsgraden en α 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 bijvoorbeeld 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 berekeningen 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 (δ). Deze statistische berekeningen zijn voor alle geselecteerde lab-bioassays uitgevoerd die uitgaan van het testen van een verdunningsreeks. Hierbij is het aantal testdieren per replica gelijk gehouden (tabel 5). Om de 'statistische gevoeligheid' van de technieken onderling te kunnen vergelijken, zijn deze berekeningen ook uitgevoerd door voor iedere techniek uit te gaan van een gelijk aantal van 5 replica's. Bij de berekeningen is gekozen voor de (min of meer standaard) situatie, waarin de kans op een vals negatieve uitkomst (α , significant effect in test terwijl dit er in werkelijkheid niet is) 5% is en de kans op een vals positieve (β , géén significant effect in test terwijl dit er in werkelijkheid wel is) 20% is.

Uit de berekeningen (tabel 1) komt een duidelijk verschil in statistische gevoeligheid naar voren tussen testen waarbij de testparameter elke waarde kan aannemen ('continue variabele', zoals algengroei in de algentest, bioluminescentie in de bacterietest en r_m -waarde in de chronische watervlooiëntest) en testen waarbij de testparameter alleen uit gehele waarden kan bestaan ('discontinue variabele', zoals sterfte in de Thamnotoxkit-, watervlooi- en Rotokit-test). Dit betekent dat in theorie, bij een vergelijkbaar aantal replica's, een statistisch significant verschil

eerder in testen met een continue variabele aantoonbaar is dan in testen die gebaseerd zijn op een discontinue variabele. Tenslotte dient te worden vermeld, dat de statistische gevoeligheid van een discontinue testparameter te verbeteren valt door het aantal testorganismen per replica te verhogen.

Tabel 1 Indicatie voor het percentage verschil (δ) tussen een monster en de blanco dat theoretisch als significant vastgesteld kan worden (n = conventionele aantal replica's; eindpunt: CV = continue variabele DV = discontinue variabele).

	eind- punt	historische σ-waarden*	n	δ (%)					(5)
				1 x n	2 x n	3 x n	4 x n	5 x n	
<u>Acute bioassays</u>									
Algentest	CV	5,5	3	17	10	8	7	6	(11)
Bacterietest	CV	12	2	64	28	22	18	16	(24)
Thamnotoxkit F	DV	35	3	100	63	49	42	37	(71)
Watervlooiëntest	DV	27	4	64	41	32	28	25	(55)
Rotoxkit F	DV	25	6	45	30	24	21	18	(51)
<u>Chronische bioassay</u>									
Watervlooiëntest	CV	12	5**	24	16	13	11	10	(24)

(5): Voor alle bioassays δ berekend bij 5 replica's. Op basis hiervan is een betere onderlinge vergelijking van de verschillende technieken mogelijk;

*: Gebaseerd op testdata van AquaSense (σ -waarden weergegeven als %);

**: Er worden weliswaar 10 replica's ingezet, maar het testresultaat van telkens 2 replica's wordt gebruikt voor de berekening van één waarde voor de reproductiecapaciteit (r_m -waarde, zie bijlage 11-I) zodat per concentratie 5 waarnemingen overblijven.

Op basis van de uitkomsten van deze berekeningen en de praktische uitvoerbaarheid, wordt aanbevolen om bij het testen van slechts één of twee concentraties poriewater uit te gaan van het volgende aantal replica's:

	Aanbevolen aantal replica's (n = standaard aantal)	Theoretisch aantoonbaar verschil
<u>Acute bioassays</u>		
Algentest	6 (2 x n)	ca. 10%
Bacterietest	5 (2,5 x n)	ca. 25%
Thamnotoxkit F	12 (4 x n)	ca. 40%
Watervlooiëntest	8 (2 x n)	ca. 40%
Rotoxkit F	12 (2 x n)	ca. 30%
<u>Chronische bioassay</u>		
Watervlooiëntest	10 (2 x n)*	ca. 15%

*: 10 r_m -waarden berekend uit 20 replica's.

Voor de bacterietest wordt 2,5 maal het aantal conventionele replica's aanbevolen omdat het praktischer is om 10 testbuisjes (5 buisjes voor de blanco en 5 voor het monster) i.p.v. 12 buisjes in

een keer te testen. Voor de Thamnotoxkit-test kan pas vanaf 4 maal het aantal conventionele replica's een significant verschil worden aangetoond dat beduidend lager is dan 50%. Voor deze test kan derhalve worden overwogen om wel een verdunningsreeks te testen omdat hiervoor slechts 3 replica's meer nodig zijn.

II Selectie testconcentratie(s)

De voorwaarde voor het beoordelen van slechts één of twee concentraties poriewater is dat het oordeel vergelijkbaar moet zijn met het oordeel dat wordt verkregen indien een volledige verdunningsreeks wordt getest. Zoals in paragraaf 2.3.1. is beschreven bestaan er voor de beoordeling van de resultaten van de 'Triade'-bioassays een tweetal beoordelingscriteria: overschrijding van criterium 1 of 2 leidt respectievelijk tot het oordeel 'matig' of 'ernstig effect'. Voor de chronische watervlooiëntest gelden bijvoorbeeld de volgende criteria ten aanzien van de beoordeling van het belangrijkste eindpunt 'NOEC_{reproductie}' (zie bijlage 11-I):

Waargenomen effect (pw = poriewater)	classificatie	beoordeling effect
NOEC _{reproductie} ≥ 100 vol.% pw	-	géén
-----criterium 1 -----		
NOEC _{reproductie} < 100 vol.% pw	+/-	matig
-----criterium 2 -----		
NOEC _{reproductie} ≤ 10 vol.% pw	+	ernstig

Deze waarden worden bepaald na het testen van doorgaans de volgende vier concentraties poriewater: 100 (onverdund), 56, 32 en 10 volume %. Indien het doel van de beoordeling uitsluitend is om uit te maken of er sprake is van een ernstig negatief effect (overschrijding criterium 2), volstaat het dus om alleen 32 vol.% poriewater te beoordelen. Wanneer blijkt dat blootstelling aan deze concentratie resulteert in een significant lagere reproductie, dan is de NOEC-waarde dus lager dan, of gelijk aan 10 vol.% en is er sprake van een ernstig effect. Voor de toetsing aan beide criteria volstaat het om naast 32 vol.% ook nog 100 vol.% poriewater te beoordelen.

Op deze manier bekeken lijkt het merkwaardig dat überhaupt meer dan twee concentraties worden beoordeeld. De reden hiervoor is echter dat door het testen van meerdere opeenvolgende concentraties inzicht wordt verkregen in het al of niet bestaan van een dosis-effect-relatie (zie begrippenlijst). Dit inzicht is belangrijk om het waargenomen effect te kunnen interpreteren. In de praktijk komt het namelijk wel eens voor dat blootstelling aan de hoogste testconcentratie (onverdund poriewater) géén of in mindere mate een effect vertoont dan blootstelling aan de daarop volgende, lagere testconcentratie. Een van de redenen hiervoor kan liggen in het feit dat in de hogere testconcentratie, naast meer toxicanten, ook een hogere concentratie voedingsstoffen bevat. Hierdoor kunnen toxische effecten worden gemaskeerd¹¹.

¹¹ Alhoewel de hoeveelheid voedingsstoffen (groenalgen), die dagelijks wordt toegediend aan het standaard blancotestmedium een aanvaardbare reproductie mogelijk maakt (de geldigheidscriteria zijn dan ook verbonden aan de resultaten in dit medium: zie bijlage 10-I), 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 voedingsstoffen. De standaard toxiciteitstest (weinig voedingsstoffen) kan daarom gezien worden als een soort 'worst case' benadering en voldoet goed indien de toxiciteit van zuivere toxicanten wordt bepaald. Indien in het poriewater de reproductie lager is dan in het blancotestmedium, dan is dit derhalve een vrij zekere aanwijzing voor de aanwezigheid van toxische verontreinigingen op de betreffende locatie.

Om de kans op het voorkomen van afwijkende dosis-effect-relaties te kunnen inschatten zijn de resultaten voor de parameter reproductie (r_m -waarde: zie bijlage 11-I) van 263 met behulp van de chronische watervlooiëntest beoordeelde waterbodemmonsters geëvalueerd (tabel 2). Het betreft hier voor het merendeel monsters die afkomstig zijn van locaties uit rijkswateren, met de nadruk op door de Rijn en Maas beïnvloede sedimentatiegebieden. Dezelfde evaluatie is ook uitgevoerd voor de overige geselecteerde bioassays, waarvoor een redelijke hoeveelheid historische data ter beschikking waren (acute bacterie-, Thamnotoxkit F- en Rotoxkit F-test).

Tabel 2 Evaluatie van de historische testresultaten van de beoordeling van verontreinigde waterbodemmonsters met bioassays (testmedium is poriewater).

Bioassay: (eindpunt):	Bacterietest (luminescentie)	Thamnotoxkit (sterfte)	Rotoxkit (sterfte)	Watervlo chronisch (reproductie)
totaal # monsters geëvalueerd (= A)	151	60	60	263
# monsters met effect (= B)*	30	37	41	116
% monster met effect (= $B/A \cdot 100\%$)	19,9 %	61,7 %	68,3 %	44,1 %
# monsters met afwijking dosis - effect (= C)	0	1	1	14
% afwijkend (= $C/B \cdot 100\%$)	0 %	2,7 %	2,4 %	12,1 %
<u>% nog afwijkend vanaf:</u>				
56 volume % poriewater	-	2,7 %	2,4 %	11,2 %
32 volume % poriewater	-	0 %	2,4 %	4,3 %
18 volume % poriewater	-	0 %	0 %	niet getest
10 volume % poriewater	-	0 %	0 %	$\leq 2,6 \%^{**}$

*: Effect:

Bacterietest: $EC_{20} < 45$ volume % poriewater;

Thamno- en Rotoxkit: ≥ 50 % effect in het onverdunde (100 volume %) poriewater;

Chronische watervlooiëntest: $NOEC_{reproductie} < 100$ volume % poriewater.

** : Aangezien 10 volume % in de meeste gevallen de laagste testconcentratie is, kan in deze gevallen niet met zekerheid worden gesteld dat vanaf deze concentratie wel sprake is van een dosis-effect-relatie, vandaar de notatie ' $\leq$ '.

Bij de monsters waar een duidelijk effect is waargenomen, is beoordeeld of de mate van effect per testconcentratie minder wordt bij een toename in de mate van verdunning. Indien dit niet het geval is, bijvoorbeeld doordat in 56 volume % meer effect is waargenomen dan in 100 volume % poriewater, dan is gesteld dat het betreffende monster een afwijkende dosis-effect-relatie heeft. Aldus beoordeeld heeft 12,1% van de monsters die zijn beoordeeld met de chronische watervlooiëntest een afwijkende dosis-effect-relatie. Voor de acute bioassays is dit percentage overall lager dan 3%. Voor de monsters met een afwijkende dosis-effect-relatie is verder bij elke verdunning beoordeeld bij hoeveel % van de monsters nog steeds sprake is van een afwijkende relatie. Vanaf 18 volume % poriewater hebben alle met de acute bioassays beoordeelde monsters een 'normale' dosis-effect-relatie. Vanaf 10 volume % is het aantal afwijkende monsters voor de chronische watervlooiëntest minder dan of gelijk aan 2,6%. Uit de resultaten van deze evaluatie kunnen de volgende conclusies worden getrokken:

	Kans op <u>verkeerde</u> beoordeling bij uitsluitend testen van (pw = poriewater):				
	100 vol.% pw (45)*	56 vol.% pw (22,5)*	32 vol.% pw (11,25)*	18 vol.% pw (5,625)*	10 vol.% pw (-)*
Bacterietest	0 %	0 %	0 %	0 %	-
Thamnotoxkit F-test	< 3 %	< 3 %	0 %	0 %	0 %
Rotokit F-test	< 3 %	< 3 %	< 3 %	0 %	0 %
Chronische watervlooiëntest	< 13 %	< 12 %	< 5 %	-	< 3 %

*: Concentratiereeks bij acute bacterietest.

Voor de acute bioassays lijkt het voor alle concentraties zeer acceptabel om slechts een of twee concentraties poriewater te beoordelen omdat de kans op het voorkomen van een afwijkende dosis-effect-relatie, en daarmee op een verkeerde beoordeling van het testresultaat, in alle gevallen lager is dan 3%. Indien 5% als grens wordt aangehouden, dan is het testen van slechts een of twee concentraties voor de chronische watervlooiëntest acceptabel vanaf 32 volume % poriewater. Hierdoor is het dus mogelijk om uitsluitend 32 volume % te testen en daarmee te beoordelen of beoordelingscriterium 2 wordt overschreden.

Het testen van lagere concentraties poriewater heeft, naast de lagere kans op een afwijkende dosis-effect-relatie, nog een aantal andere voordelen:

- Minder poriewater nodig: dit betekent minder werk en dus lagere kosten;
- Bij lagere concentraties (≤ 32 volume %) worden vrijwel nooit de randvoorwaarden (zie 5.4, onderdeel C) overschreden (eigen waarneming J. Brils, AquaSense);
- Een significant negatief effect in een lage concentratie wordt ook 'gevoelsmatig' als ernstig beschouwd.

Uit oogpunt van kosten-effectiviteit kan derhalve worden overwogen om uitsluitend die concentratie poriewater te testen waarmee beoordeeld kan worden of criterium 2 wordt overschreden. Om de gevoeligheid te verhogen wordt aanbevolen om hierbij het aantal replica's te testen zoals weergegeven in de vorige paragraaf (14-I).

Bijlage 15. Gevoeligheid bioassays voor specifieke toxicanten

NB: Deze waarden zijn nog niet gevalideerd in het kader van de INS (zie 6.2.1).

CAS-nr	Stof	Acuut (µg/l)					Chronisch (µg/l)	
		EC50, 72u	EC50, 30min	LC50, 24u	EC50, 48u	LC50, 24u	LOECrepr., 21d	EC50, 28d
		Alg	Bacterie	<i>T. platyurus</i>	<i>D. magna</i>	<i>B. calyciflorus</i>	<i>D. magna</i>	<i>C. riparius</i>
Metalen								
	Arseen	400 *	4900	1040 *	1040	12100	520	-
	Cadmium	40	1620	200	20	1200	5 *	420 *
	Chroom	160	13000	18	100	8270	44	2447 *
	Koper	40	130	79	10	26	2.5 *	21.6
	Kwik	800 *	10	40	3.8	53	1.675 *	80 *
	Lood	500	80	1630	150	9980	22.5 *	6256 *
	Nikkel	500	23000	2210	510	4000	15	-
	Zink	60	530	230	68	2420	105 *	450 *
PAK's								
120-12-7	Anthraceen	6 *	11	3 *	3 *	-	1.9	5.4 *
56-55-3	Benzo(a)anthraceen	-	260	0.72 *	0.72 *	-	0.18 *	-
50-32-8	Benzo(a)pyreen	2.5	-	0.3 *	0.3 *	-	0.075 *	-
191-24-2	Benzo(ghi)peryleen	-	-	0.08 *	0.08 *	-	0.02 *	-
207-08-9	Benzo(k)fluorantheen	-	-	0.56 *	0.56 *	-	0.14 *	-
218-01-9	Chryseen	-	-	0.7 *	0.7	-	0.175 *	-
85-01-8	Fenantreen	180 *	210	380 *	380	-	45 *	98 *
206-44-0	Fluorantheen	54000	470	0.8 *	0.8 *	-	0.2 *	12.8 *
91-20-3	Naftaleen	33000	680	2200 *	2200	-	550 *	560 *
193-39-5	Indeno(1,2,3-cd)pyreen	-	-	-	-	-	-	-
OCB's								
309-00-2	Aldrin	-	-	28 *	28	-	7 *	0.16 *
60-57-1	Dieldrin	25000 *	-	145 *	145	-	80 *	0.1 *
72-20-8	Endrin	1920 *	-	0.57 *	0.57	-	0.1425 *	2.594 *
50-29-3	DDT	1.6 *	10	0.5 *	0.5	-	0.125 *	0.94 *
72-54-8	DDD	-	-	4.6 *	4.6	-	1.15 *	0.072 *
72-55-9	DDE	-	-	-	-	-	-	1.2 *
115-29-7	Endosulfan (alfa)	20000 *	-	62 *	62	5150	15.5 *	0.46 *
319-84-6	alfa-HCH	2000 *	-	800 *	800	-	225 *	-
319-85-7	beta-HCH	4000 *	-	3200 *	3200 *	-	800 *	-
58-89-9	gamma-HCH (lindaan)	2000 *	5700	485 *	485	-	47.5 *	0.72 *
76-44-8	Heptachloor	28.2	-	52 *	52	-	31.25 *	0.22 *
1024-57-3	Heptachloorepoxide	-	-	120 *	120	-	30 *	-
Chloorbenzenen								
118-74-1	Hexachloorbenzeen	30	-	16 *	16	-	0.325 *	-
Minerale olie								
		-	-	32000 *	32000	-	8000 *	-

*: Afgeleide waarde (zie bijlage 17)

Bijlage 16. K_p-waarden

Waarden geldend voor standaard bodem (10% organische stof en 25% lutum)

CAS-nr Stof	Kp-waarden (l/kg zwevende stof) [1, 2]			logKp l/kg zw.stof[3]	Kp l/kg zw. stof	Koc l/kg
	laagste	mediaan	hoogste			
- METALEN						
- Arseen	5400	10000	18400	-	10000	-
- Cadmium	50000	130000	493000	-	130000	-
- Chroom	126000	290000	786000	-	290000	-
- Koper	12000	50000	149000	-	50000	-
- Kwik	31000	170000	270000	-	170000	-
- Lood	438000	640000	3474000	-	640000	-
- Nikkel	4300	8000	21700	-	8000	-
- Zink	52000	110000	215000	-	110000	-
PAK's						
120-12-7 Anthraceen	-	-	-	3.52	3311	56315
56-55-3 Benzo(a)anthraceen	-	-	-	4.86	72444	1232034
50-32-8 Benzo(a)pyreen	-	-	-	5.04	109648	1864759
191-24-2 Benzo(ghi)peryleen	-	-	-	5.70	501187	8523592
207-08-9 Benzo(k)fluorantheen	-	-	-	5.07	117490	1998125
218-01-9 Chryseen	-	-	-	4.80	63096	1073057
85-01-8 Fenantreen	-	-	-	3.53	3388	57627
206-44-0 Fluorantheen	-	-	-	4.23	16982	288817
91-20-3 Naftaleen	-	-	-	2.37	234	3987
193-39-5 Indeno(1,2,3-cd)pyreen	-	-	-	5.47	295121	5019063
CHLOORBENZENEN						
118-74-1 Hexachloorbenzeen	-	-	-	4.80	63150	1073980
ORGANOCHLOOR BESTRIJDINGSMIDDELEN (OCB's)						
309-00-2 Aldrin	-	-	-	4.18	15136	257408
60-57-1 Dieldrin	-	-	-	4.87	74131	1260732
72-20-8 Endrin	-	-	-	3.36	2291	38960
50-29-3 DDT	-	-	-	4.70	50119	852359
72-54-8 DDD	-	-	-	3.98	9550	162414
72-55-9 DDE	-	-	-	3.89	7762	132015
115-29-7 Endosulfan (alfa)	-	-	-	2.18	151	2574
319-84-6 alfa-HCH	-	-	-	2.32	209	3553
319-85-7 beta-HCH	-	-	-	2.43	269	4577
58-89-9 gamma-HCH (lindaan)	-	-	-	2.05	112	1908
76-44-8 Heptachloor	-	-	-	3.52	3311	56315
1024-57-3 Heptachloorepoxide	-	-	-	2.01	102	1740
OVERIGE						
Minerale olie	-	-	-		98642	1677590 *

* gemiddelde waarde voor PAK genomen

K_{oc} = K_p/f_{oc} (f_{oc} = 0,0588 in standaardbodem)

Bronnen:

[1] Stortelder *et al.*, 1989 (Kansen voor waterorganismen)

[2] Kooij *et al.*, 1991 (tabel 1)

[3] RIZA, INS-data d.d. 2-4-'97

Bijlage 17. Afleiding van L(E)C₅₀-waarden

In INS-kader worden de volgende regels gehanteerd om NOEC's (chronisch) af te leiden uit het percentage effect in (chronische) testen (mondelinge mededeling, M. Beek, RIZA):

1. $\leq 10\%$ effect = NOEC;
2. LOEC (10 - 20% effect) / 2 = NOEC;
3. LOEC (20 - 50% effect) / 3 = NOEC;
4. $(\geq 50\%$ effect) / 10 = NOEC.

Op basis van deze 'INS-regels' zijn de volgende keuzes gemaakt (en afgestemd met M. Beek, RIZA) bij het afleiden van L(E)C₅₀-waarden (acute testen en chronische muggelarventest) of LOEC-waarden (LOECreproductie chronische watervlooiëntest) uit afwijkende eindpunt-waarden (telkens uitgaande van een gelijke blootstellingsduur):

- $EC_{10} = \text{NOEC}$
Gebaseerd op INS regel 1;
- $\text{NOEC} \times 2,5 = \text{LOEC (10 - 50\% effect)}$
Gekozen voor de gemiddelde afstand 'NOEC' - 'LOEC' tussen INS regel 2 (factor 2) en regel 3 (factor 3);
- $\text{NOEC} \times 10 = L(E)C_{50}$
Gebaseerd op INS regel 4;
- $\text{LOEC} \times 4 = L(E)C_{50}$
Rolt logisch voort uit tweede (afstand 'NOEC' - 'LOEC' = factor 2,5) en derde keuze (afstand 'NOEC' - 'L(E)C₅₀' = factor 10);
- $(L(E)C_{100} / 10) = L(E)C_{50}$
 $L(E)C_{100}$ beschouwd als tegenpool van NOEC, vandaar dezelfde afstand gekozen als tussen 'NOEC' - 'L(E)C₅₀' (factor 10)

Verdere keuzes (niet geïnspireerd op INS):

- Bij grote verschillen in blootstellingsduur (meer dan factor 2) is op basis van 'expert-judgement' een correctiefactor 2,5 of 5 gebruikt afhankelijk van de grootte van het verschil tussen de in de literatuur gevonden blootstellingsduur en de gewenste blootstellingsduur;
- 'Gaten' bij Thamnotoxkit-test zijn opgevuld met gegevens voor *Daphnia magna* acuut. Hierbij is er vanuit gegaan dat kreeftachtigen zoals *Thamnocephalus* en *Daphnia* een vergelijkbare gevoeligheid hebben (zie bijlage 15 en Persoone *et al.*, 1994);
- 'Gaten' bij chronische watervlooiëntest zijn eveneens opgevuld met gegevens voor *Daphnia magna* acuut. Hierbij is volgende regel gehanteerd:

$$\text{LOEC}_{\text{reproductie, chronisch}} = (\text{EC}_{50, \text{mobiliteit, acuut}}) / 4$$

De factor 4 is afgeleid van de mediane factor uit een vergelijking van 'LOEC' - 'EC₅₀'-waarden voor *D. magna* voor 13 verschillende probleemstoffen. De mediane factor bedroeg 3,56 en is naar boven afgerond tot 4

Bijlage 18. Trefkans bioassays

Trefkans op

detectie van toxiciteit % normoverschrijding (SIGN = signalerings-, IW = interventie- of TW = toetsingswaarde)

Cpw = concentratie in poriewater berekend volgens evenwichtpartitie-methode (Van der Kooij et al., 1991)

Stoffen	norm	veront- reinigings- klasse	Trefkans eenheden (TE= Cpw /tox.-waarde)								Trefkans							
			Acute testen					Chronische testen			Acuut					Chronisch		
			Alg	Bacterie	T. plat.	D. mag.	B. caly.	D. mag.	C. rip.	Alg	Bacterie	T. platy.	D. magn	B. calycifl.	D. magna	C. riparius		
METALEN																		
Arseen	SIGN	4	0.06	0.00	0.02	0.02	0.00	0.04		- *	-	- *	-	-	-	-	?	
Cadmium	SIGN	4	0.01	0.00	0.00	0.02	0.00	0.07	0.00	-	-	-	-	-	-	- *	- *	
Chroom	SIGN	4	0.03	0.00	0.29	0.05	0.00	0.12	0.00	-	-	+/-	-	-	-	+/-	- *	
Koper	SIGN	4	0.30	0.09	0.15	1.20	0.46	4.80	0.56	+/-	-	+/-	+	+/-	-	+	+/- *	
Kwik	SIGN	4	0.00	0.01	0.00	0.03	0.00	0.08	0.00	- *	-	-	-	-	-	- *	- *	
Lood	SIGN	4	0.00	0.03	0.00	0.02	0.00	0.10	0.00	-	-	-	-	-	-	+/- *	- *	
Nikkel	SIGN	4	0.08	0.00	0.02	0.07	0.01	2.50		-	-	-	-	-	-	+	?	
Zink	SIGN	4	0.57	0.06	0.15	0.50	0.01	0.32	0.08	+/-	-	+/-	+/-	-	-	+/- *	- *	
som TE's metaal			1.05	0.21	0.63	1.92	0.49	8.04	0.64	+	+/-	+/-	+	+/-	-	+	+/-	
gemiddelde TU metaal			0.13	0.03	0.08	0.24	0.06	1.00	0.11	+/-	-	-	+/-	-	-	+	+/-	
PAK's																		
Anthraceen	IWsom	4	4.03	2.20	8.05	8.05		12.72	4.47	+	*	+	+	*	?	+	+	*
Benzo(a)anthraceen	IWsom	4			0.00	1.53	1.53	6.14		?	-	+	*	+	?	+	*	?
Benzo(a)pyreen	IWsom	4	0.29		2.43	2.43		9.73		+/-	?	+	*	+	?	+	*	?
Benzo(ghi)peryleen	IWsom	4			2.00	2.00		7.98		?	?	+	*	+	?	+	*	?
Benzo(k)fluorantheen	IWsom	4			1.22	1.22		4.86		?	?	+	*	+	?	+	*	?
Chryseen	IWsom	4			1.81	1.81		7.25		?	?	+	*	+	?	+	*	?
Fenantreen	IWsom	4	0.13	0.11	0.06	0.06		0.52	0.24	+/- *	+/-	- *	-	?	-	+/- *	+/- *	
Fluorantheen	IWsom	4	0.00	0.01	5.89	5.89		23.55	0.37	-	-	+	*	+	?	+	*	+/- *
Naftaleen	IWsom	4	0.01	0.50	0.16	0.16		0.62	0.61	-	-	+/- *	+/- *	?	-	+/- *	+/- *	
Indeno(1,2,3)pyreen	IWsom	4								?	?	?	?	?	?	?	?	?
som TE's PAK			4.46	2.82	23.15	23.15		73.37	5.69	+	+	+	+	?	-	+	+	
gemiddelde TU PAK			0.89	0.56	2.57	2.57		8.15	1.42	+/-	+/-	+	+	?	-	+	+	
ORGANOCHLOOR BESTRIJDINGSMIDDELEN (OCB's)																		
Aldrin	IWsom	4			0.02	0.02		0.08	3.30	?	?	- *	-	?	-	- *	+	+
Dieldrin	IWsom	4	0.00		0.00	0.00		0.00	1.08	- *	?	- *	-	?	-	- *	+	+
Endrin	IWsom	4	0.00		6.13	6.13		24.51	1.35	- *	?	+	*	+	?	+	+	+
som TE's Drins			0.00		6.15	6.15		24.58	5.73	-	?	+	+	?	-	+	+	
gemiddelde TU Drins			0.00		2.05	2.05		8.19	1.91	-	?	+	+	?	-	+	+	
DDT	IWsom	4	0.10	0.02	0.32	0.32		1.28	0.17	- *	-	+/- *	+/-	?	-	+	+	+
DDD	IWsom	4			0.18	0.18		0.73	11.63	?	?	+/- *	+/-	?	-	+/- *	+	+
DDE	IWsom	4						0.86		?	?	?	?	?	-	?	+/- *	
som TE's			0.10	0.02	0.50	0.50		2.01	12.66	-	-	+/-	+/-	?	-	+	+	
gemiddelde TU			0.10	0.02	0.25	0.25		1.00	4.22	-	-	+/-	+/-	?	-	+	+	
Endosulfan (alfa)	TWsom	3	0.00		0.00	0.00	0.00	0.02	0.57	- *	?	- *	-	-	-	- *	+/- *	
alfa-HCH	IWsom	4	0.01		0.02	0.02		0.09		- *	?	- *	-	?	-	- *	?	
beta-HCH	IWsom	4	0.00		0.00	0.00		0.02		- *	?	- *	-	?	-	- *	?	
gamma-HCH (lindaan)	IWsom	4	0.02	0.01	0.07	0.07		0.75	49.51	- *	-	- *	-	?	-	+/- *	+	+
som TE's HCH's			0.03	0.01	0.10	0.10		0.85	49.51	-	-	+/-	+/-	?	-	+/-	+	
gemiddelde TU HCH's			0.01	0.01	0.03	0.03		0.28	49.51	-	-	-	-	?	-	+/-	+	
Heptachloor	TWsom	3	0.00		0.00	0.00		0.00	0.05	-	?	- *	-	?	-	- *	- *	
Heptachloorepoxide	TWsom	3			0.00	0.00		0.01		?	?	- *	-	?	-	- *	?	
som TE's			0.00		0.00	0.00		0.01	0.05	-	?	-	-	?	-	-	-	
gemiddelde TU			0.00		0.00	0.00		0.01	0.05	-	?	-	-	?	-	-	-	
som TE's OCB's			0.13	0.02	6.76	6.76	0.00	27.47	68.54	+/-	-	+	+	-	-	+	+	
gemiddelde TU OCB's			0.02	0.00	0.47	0.47	0.00	1.90	11.25	-	-	+/-	+/-	-	-	+	+	
CHLOORBENZENEN																		
Hexachloorbenzeen	Iwsom	4	0.03		0.06	0.06		2.92		-	?	- *	-	?	-	+	*	?
OVERIGE																		
Minerale olie	IW	4			0.00	0.00		0.01		?	?	- *	-	?	-	- *	?	

* gebaseerd op een afgeleide toxiciteitswaarde (zie bijlage 17)

Bijlage 19. Handleiding bij spreadsheet 'TREFKANS'

Inleiding

Hierna wordt beschreven hoe de spreadsheet 'TREFKANS' kan worden geïnstalleerd, en hoe hiermee moet worden omgegaan. Met deze spreadsheet kunnen op basis van de stofgehalten in sediment, de trefkansen van geselecteerde bioassays (zie hoofdstuk 5) op het detecteren van toxiciteit als gevolg van deze gehalten worden berekend. Het een en ander is uitvoerig beschreven in hoofdstuk 6 (zie paragraaf 6.2.1) en hoofdstuk 7 (zie paragraaf 7.1.2).

Specificaties

De spreadsheet 'TREFKANS' wordt geleverd in twee versies:

- TREFKANS.XLW voor Microsoft Excel 4.0 en
- TREFKANS.XLS voor Microsoft Excel 5.0 en 7.0.

De spreadsheet bevat twee werkbladen: 'Invoer' en 'Resultaten'. Het invoerwerkblad (figuur 1) wordt gebruikt om de gemeten gehalten van de stoffen in te vullen. In het resultatenwerkblad (figuur 2) worden de berekeningen gemaakt en gepresenteerd. De werkbladen zijn zodanig beveiligd, dat alleen de meetwaarden kunnen worden ingevoerd. De data in overige cellen kunnen niet worden veranderd.

Het resultatenwerkblad bevat alle formules (zie paragraaf 6.2.1) en basale data (zie bijlage 15 en 16) om de berekeningen mee uit te voeren.

Locatie:				
Code:				
Foc:	fractie organisch koolstof (= % organische stof / 1,70 / 100)			
METALEN		PAK's		ORGANOCHLOOR BESTRIJDINGSMIDDELEN
	gestand. gehalte (mg/kg)		gemeten gehalte (mg/kg)	gemeten gehalte (mg/kg)
Cadmium		Naftaleen		Aldrin
Kwik		Benzo(a)anthraceen		Dieldrin
Koper		Benzo(ghi)peryleen		Endrin
Nikkel		Benzo(a)pyreen		DDT
Lood		Fenantreen		DDD
Zink		Indeno(1,2,3)pyreen		DDE
Chroom		Anthraceen		Endosulfan (alfa)
Arseen		Benzo(k)fluorantheen		alfa-HCH
		Chryseen		beta-HCH
		Fluorantheen		gamma-HCH (lindaan)
				Heptachloor
				Heptachloorepoxide
				CHLOORBENZENEN
				gemeten gehalte (mg/kg)
				Hexachloorbenzeen
				OVERIGE
				Minerale olie

Figuur 1 Invoerwerkblad

Trefkans op detectie van toxiciteit																
Locatie:																
Code:																
Foc:		fractie organisch koolstof (= % organische stof / 1,70 / 100)														
Stoffen	Csed (mg/kg)	Cpw (µg/l)	Trefkans eenheden (TE= Cpw /tox.-waarde)						Trefkans ('-' = nihil, '+/-' = mogelijk, '+' = reëel, '?' = onbekend)							
			Acuut			Chronisch			Acuut			Chronisch				
			Alg	Bacterie	T. plat.	D. mag.	B. calv.	D. mag.	C. rip.	Alg	Bacterie	T. platyrus	D. magna	B. calycifl.	D. magna	C. riparius
METALEN																
	gestand. gehalte															
Cadmium	0	0.0	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	?	?	?	?	?	?	?
Kwik	0	0.0	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	?	*	?	?	?	?	?
Koper	0	0.0	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	?	?	?	?	?	?	?
Nikkel	0	0.0	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	?	?	?	?	?	?	?
Lood	0	0.0	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	?	?	?	?	?	?	?
Zink	0	0.0	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	?	?	?	?	?	?	?
Chroom	0	0.0	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	?	?	?	?	?	?	?
Arseen	0	0.0	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	?	*	?	?	?	?	?
som TE's metaal			0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	?	?	?	?	?	?	?
PAK's																
	gemeten gehalte															
Naftaleen	0	#DIV/0!	#DIV/0!	#DIV/0!	#DIV/0!	#DIV/0!	#DIV/0!	#DIV/0!	#DIV/0!	###	###	### *	###	?	### *	### *
Benzo(a)anthracen	0	#DIV/0!	#DIV/0!	#DIV/0!	#DIV/0!	#DIV/0!	#DIV/0!	#DIV/0!	#DIV/0!	?	###	### *	### *	?	### *	?
Benzo(ghi)peryleen	0	#DIV/0!	#DIV/0!	#DIV/0!	#DIV/0!	#DIV/0!	#DIV/0!	#DIV/0!	#DIV/0!	?	?	### *	### *	?	### *	?
Benzo(a)pyreen	0	#DIV/0!	#DIV/0!	#DIV/0!	#DIV/0!	#DIV/0!	#DIV/0!	#DIV/0!	#DIV/0!	###	?	### *	### *	?	### *	?
Fenantreen	0	#DIV/0!	#DIV/0!	#DIV/0!	#DIV/0!	#DIV/0!	#DIV/0!	#DIV/0!	#DIV/0!	### *	###	### *	### *	?	### *	### *
Indeno(1,2,3)pyreen	0	#DIV/0!	#DIV/0!	#DIV/0!	#DIV/0!	#DIV/0!	#DIV/0!	#DIV/0!	#DIV/0!	?	?	?	?	?	?	?
Anthracen	0	#DIV/0!	#DIV/0!	#DIV/0!	#DIV/0!	#DIV/0!	#DIV/0!	#DIV/0!	#DIV/0!	### *	###	### *	### *	?	### *	### *
Benzo(k)fluorantheen	0	#DIV/0!	#DIV/0!	#DIV/0!	#DIV/0!	#DIV/0!	#DIV/0!	#DIV/0!	#DIV/0!	?	?	### *	### *	?	### *	?
Chryseen	0	#DIV/0!	#DIV/0!	#DIV/0!	#DIV/0!	#DIV/0!	#DIV/0!	#DIV/0!	#DIV/0!	?	?	### *	### *	?	### *	?
Fluorantheen	0	#DIV/0!	#DIV/0!	#DIV/0!	#DIV/0!	#DIV/0!	#DIV/0!	#DIV/0!	#DIV/0!	###	###	### *	### *	?	### *	### *
som TE's PAK			#DIV/0!	#DIV/0!	#DIV/0!	#DIV/0!	#DIV/0!	#DIV/0!	#DIV/0!	###	###	###	###	?	###	###
ORGANOCHLOOR BESTRIJDINGSMIDDELEN (OCB's)																
Aldrin	0	#DIV/0!	#DIV/0!	#DIV/0!	#DIV/0!	#DIV/0!	#DIV/0!	#DIV/0!	#DIV/0!	?	?	### *	###	?	### *	### *
Dieldrin	0	#DIV/0!	#DIV/0!	#DIV/0!	#DIV/0!	#DIV/0!	#DIV/0!	#DIV/0!	#DIV/0!	### *	?	### *	###	?	### *	### *
Endrin	0	#DIV/0!	#DIV/0!	#DIV/0!	#DIV/0!	#DIV/0!	#DIV/0!	#DIV/0!	#DIV/0!	### *	?	### *	###	?	### *	### *
som TE's			#DIV/0!	#DIV/0!	#DIV/0!	#DIV/0!	#DIV/0!	#DIV/0!	#DIV/0!	###	?	###	###	?	###	###
DDT	0	#DIV/0!	#DIV/0!	#DIV/0!	#DIV/0!	#DIV/0!	#DIV/0!	#DIV/0!	#DIV/0!	### *	###	### *	###	?	### *	### *
DDD	0	#DIV/0!	#DIV/0!	#DIV/0!	#DIV/0!	#DIV/0!	#DIV/0!	#DIV/0!	#DIV/0!	?	?	### *	###	?	### *	### *
DDE	0	#DIV/0!	#DIV/0!	#DIV/0!	#DIV/0!	#DIV/0!	#DIV/0!	#DIV/0!	#DIV/0!	?	?	?	?	?	?	### *
som TE's			#DIV/0!	#DIV/0!	#DIV/0!	#DIV/0!	#DIV/0!	#DIV/0!	#DIV/0!	###	###	###	###	?	###	###
Endosulfan (alfa)	0	#DIV/0!	#DIV/0!	#DIV/0!	#DIV/0!	#DIV/0!	#DIV/0!	#DIV/0!	#DIV/0!	### *	?	### *	###	###	### *	### *
alfa-HCH	0	#DIV/0!	#DIV/0!	#DIV/0!	#DIV/0!	#DIV/0!	#DIV/0!	#DIV/0!	#DIV/0!	### *	?	### *	###	?	### *	?
beta-HCH	0	#DIV/0!	#DIV/0!	#DIV/0!	#DIV/0!	#DIV/0!	#DIV/0!	#DIV/0!	#DIV/0!	### *	?	### *	### *	?	### *	?
gamma-HCH (lindaan)	0	#DIV/0!	#DIV/0!	#DIV/0!	#DIV/0!	#DIV/0!	#DIV/0!	#DIV/0!	#DIV/0!	### *	###	### *	###	?	### *	### *
som TE's			#DIV/0!	#DIV/0!	#DIV/0!	#DIV/0!	#DIV/0!	#DIV/0!	#DIV/0!	###	###	###	###	?	###	###
Heptachloor	0	#DIV/0!	#DIV/0!	#DIV/0!	#DIV/0!	#DIV/0!	#DIV/0!	#DIV/0!	#DIV/0!	?	?	### *	###	?	### *	### *
Heptachloorepoxide	0	#DIV/0!	#DIV/0!	#DIV/0!	#DIV/0!	#DIV/0!	#DIV/0!	#DIV/0!	#DIV/0!	?	?	### *	###	?	### *	?
som TE's			#DIV/0!	#DIV/0!	#DIV/0!	#DIV/0!	#DIV/0!	#DIV/0!	#DIV/0!	###	?	###	###	?	###	###
som TE's OCB's			#DIV/0!	#DIV/0!	#DIV/0!	#DIV/0!	#DIV/0!	#DIV/0!	#DIV/0!	###	###	###	###	###	###	###
CHLOORBENZENEN																
Hexachloorbenzeen	0	#DIV/0!	#DIV/0!	#DIV/0!	#DIV/0!	#DIV/0!	#DIV/0!	#DIV/0!	#DIV/0!	###	?	### *	###	?	### *	?
OVERIGE																
Minerale olie	0	#DIV/0!	#DIV/0!	#DIV/0!	#DIV/0!	#DIV/0!	#DIV/0!	#DIV/0!	#DIV/0!	?	?	### *	###	?	### *	?

Cpw = concentratie in poriewater berekend volgens evenwichtpartitie-methode (Van der Kooij et al., 1991)
 Csed = concentratie in sediment

* : gebaseerd op een afgeleide toxiciteitswaarde

Figuur 2 Uitvoerwerkblad

Benodigdheden

Ervaring: • enige ervaring met Excel;

Software: • voor de versie TREFKANS.XLW:
 Windows 3.x en Microsoft Excel 4.0;
 • voor de versie TREFKANS.XLS:
 - Windows 3.x en Microsoft Excel 5.0 óf
 - Windows95 en Microsoft Excel 7.0.

- Hardware:*
- voor de versie TREFKANS.XLW:
minimaal een PC met een 386 processor en 4 MB werkgeheugen;
 - voor de versie TREFKANS.XLS:
bij gebruikmaking van Excel 5.0:
minimaal een PC met een 386 processor en 8 MB werkgeheugen;
bij gebruikmaking van Excel 7.0:
minimaal een PC met een 486 processor en 16 MB werkgeheugen.

Installatie

1. Doe de bij dit rapport bijgevoegde floppy in de drive van de PC (A:);
2. Werkt u met Excel 5.0 of 7.0 kopieer dan het bestand TREFKANS.XLS naar de gewenste directory. Werkt u met Excel 4.0, doe dit dan met het bestand TREFKANS.XLW;
3. De spreadsheet is klaar voor gebruik.

Invoer van gegevens

1. Activeer Microsoft Excel;
2. Kies File, Open... c.q. Bestand, Open. Open bestand TREFKANS.XLS als u Excel 5.0 of 7.0 gebruikt of TREFKANS.XLW als u werkt met Excel 4.0;
3. Activeer het werkblad met de naam 'Invoer';
4. Ga met behulp van de pijltjes of de muis naar de eerste grijze cel achter 'Locatie' en voer de locatie-aanduiding in;
5. Ga met behulp van de pijltjes of muis naar de volgende grijze cel achter 'Code' en voer de locatiecode in;
6. Ga met behulp van de pijltjes of muis naar de volgende grijze cel achter 'Foc' en voer de fractie organisch koolstof in. Indien deze niet is gemeten, bereken deze dan op basis van het percentage organische koolstof met behulp van de volgende formule (zie ook bijlage 8-II):
$$\text{organisch koolstof} / 1,70 / 100;$$
7. Ga met behulp van de pijltjes of de muis naar de eerste cel van het volgende grijze blok onder de kop 'METALEN'. Hier voert u de concentratie van cadmium in het sediment in (in mg/kg droge stof, gestandaardiseerd gehalte). Vul op dezelfde manier de concentraties van de overige metalen in.
8. Ga met behulp van de pijltjes of de muis naar de eerste cel van het volgende grijze blok onder de kop 'PAK's'. Hier voert u de concentratie van naftaleen in (in mg/kg droge stof, gemeten gehalte).
9. Herhaal de vorige handeling voor de blokken 'ORGANOCHLOOR BESTRIJDINGS-MIDDELEN', 'CHLOORBENZENEN' en 'OVERIGE'.

LET OP:

- in plaats van een 'komma' dient in getallen een 'puntje' te worden gebruikt;
- alle concentraties moeten worden ingevoerd in mg/kg droge stof (dus ook die van de organochloor bestrijdingsmiddelen, deze worden in Lawabo namelijk weergegeven als µg/kg droge stof!)

- de concentraties van de metalen moeten worden ingevoerd als gestandaardiseerde gehalten (gecorrigeerd voor lutum en organische stof);
- voer de overige stoffen (organische microverontreinigingen) in als niet gestandaardiseerde gehalten (gemeten gehaltenes);
- aanbeveling bij gehalten beneden de detectielimiet:
neem bijvoorkeur de *helft* van de deze limiet en voer deze in. Indien de detectielimiet voor een bepaalde stof bijvoorbeeld 0,001 mg/kg is, voer dan als waarde 0,0005 mg/kg in. Zo wordt het dan toch mogelijk om berekeningen uit te voeren voor de betreffende stof.

Bewaren van gegevens

1. Sla het bestand op onder een nieuwe naam (File, Save As c.q. Bestand, Opslaan Als), in een door u gekozen directory.

Uitvoer en interpretatie van gegevens

Activeer voor de uitvoer (resultaten) van de berekeningen het werkblad 'Resultaten'.

De gegevens kunnen op twee manieren worden uitgevoerd: naar het scherm, of naar een printer. In bijlage 20 wordt een voorbeeld van een print weergegeven.

Afdrukken van de resultaten

1. Kies het werkblad dat uitgeprint moet worden.
2. Kies File, Print... c.q. Bestand, Afdrukken....
3. Selecteer de juiste printer en verander desgewenst het aantal kopieën;
4. Klik op de OK-knop of druk op <Enter> op het toetsenbord.

Opbouw uitvoer

In het kopje van de uitvoer worden de gegevens over de locatie gegeven: locatiennaam, locatiecode en de fractie organisch koolstof.

De rest van de uitvoer is verdeeld per stofgroep: de metalen, de PAK's, de organochloor bestrijdingsmiddelen, de chloorbenzenen en de overige stoffen.

In de **eerste kolom** staan de namen van de stoffen, voorafgegaan door de groepsnaam.

In de **tweede kolom** (Csed) worden de door de gebruiker ingevoerde gegevens weergegeven.

De **derde kolom** geeft de berekende concentraties in het poriewater (C_{pw} , in $\mu\text{g/l}$). Deze waarden worden berekend volgens de evenwichtpartitie-methode (Van der Kooij *et al.*, 1991: zie paragraaf 6.2.1).

In de **vierde tot en met de achtste kolom** worden de resultaten gegeven dan de berekening van de trefkanseenheden ($TE = C_{pw} / \text{tox. -waarde}$) uitgaande van acute toxiciteit.

De **negende en tiende kolom** geven de resultaten van de berekening van de trefkanseenheden uitgaande van chronische toxiciteit.

In **kolom elf tot en met zeventien** staan de trefkansen per testorganisme op basis van de trefkanseenheden in kolom vier tot en met tien. De trefkansen worden met de volgende symbolen weergegeven:

- : trefkans nihil;
- + /- : trefkans mogelijk;
- + : trefkans reëel;
- ? : trefkans onbekend.
- * : achter een trefkans betekent dat de berekening is gebaseerd op een afgeleide toxiciteitwaarde (zie bijlage 17).

Per stofgroep worden de trefkanseenheden en de trefkansen gesommeerd. De gesommeerde trefkansen zijn gebaseerd op de gesommeerde trefkanseenheden.

Hoe te interpreteren

De trefkanseenheden (TE) worden berekend volgens $TE = C_{pw} / \text{toxiciteit waarde}$. De TE geeft aan wat de kans is dat toxiciteit van het betreffende monster wordt gedetecteerd bij toepassing van een bioassay met de betreffende testorganismen. Een TE van 1 geeft aan, dat de gemeten waarde even hoog is als de toxiciteitwaarde. Als de TE kleiner is dan 0,1 wordt de kans dat toxiciteit wordt gedetecteerd als 'nihil' beschouwd. Bij een TE van groter dan of gelijk aan 0,1 maar kleiner dan 1 wordt de trefkans 'mogelijk' gegeven en bij een TE van groter dan of gelijk aan 1 is de trefkans 'reëel'.

Per groep van stoffen worden de trefkanseenheden gesommeerd. Op basis van deze som wordt een trefkans bepaald. Hierbij is geen rekening gehouden met versterkende of verzwakkende effecten van een mengsel van verschillende stoffen.

Bijlage 20. Trefkans in praktijkmonsters

NB: leeg, grijs vakje geeft aan dat het gehalte van de betreffende stof beneden de detectielimiet ligt, of dat het gehalte niet is bepaald.

Trefkans op detectie van toxiciteit

Locatie: **Sassenheimervaart locatie S3**
 Ecolims nr.: **300141**
 Foc: **0.124** fractie organisch koolstof (= % organische stof / 1,70 / 100)

Stoffen	Csed (mg/kg)	Cpw (µg/l)	Trefkans eenheden (TE= Cpw /tox.-waarde)						Trefkans ('-' = nihil, '+/-' = mogelijk, '+' = reeel, '?' = onbekend)							
			Acuut			Chronisch			Acuut				Chronisch			
			Alg	Bacterie	T. plat.	D. mag.	B. caly.	D. mag.	C. rip.	Alg	Bacterie	T. platyurus	D. magna	B. calycifl.	D. magna	C. riparius
gestand. gehalte																
METALEN																
Cadmium	3.44	0.0	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.01	0.00	-	-	-	-	-	- *	- *
Kwik	3.84	0.0	0.00	0.00	0.00	0.01	0.00	0.02	0.00	- *	-	-	-	-	- *	- *
Koper	151.57	4.5	0.11	0.03	0.06	0.45	0.17	1.82	0.21	+/-	-	-	+/-	+/-	+ *	+/- *
Nikkel	51.34	9.6	0.02	0.00	0.00	0.02	0.00	0.64		-	-	-	-	-	+/-	?
Lood	454.49	1.1	0.00	0.01	0.00	0.01	0.00	0.05	0.00	-	-	-	-	-	- *	- *
Zink	1190.52	16.2	0.27	0.03	0.07	0.24	0.01	0.15	0.04	+/-	-	-	+/-	-	+/- *	- *
Chroom	82.35	0.4	0.00	0.00	0.02	0.00	0.00	0.01	0.00	-	-	-	-	-	-	- *
Arseen	20.28	3.0	0.01	0.00	0.00	0.00	0.00	0.01		- *	-	- *	-	-	-	?
som TE's metaal			0.42	0.08	0.16	0.74	0.19	2.71	0.25	+/-	-	+/-	+/-	+/-	+	+/-
gemeten gehalte																
PAK's																
Naftaleen	0.55	2.23	0.00	0.00	0.00	0.00		0.00	0.00	-	-	- *	-	?	- *	- *
Benzo(a)anthraceen	1.8	0.02		0.00	0.03	0.03		0.13		?	-	- *	- *	?	+/- *	?
Benzo(ghi)peryleen	1.5	0.00			0.04	0.04		0.14		?	?	- *	- *	?	+/- *	?
Benzo(a)pyreen	1.7	0.01	0.01		0.05	0.05		0.20		-	?	- *	- *	?	+/- *	?
Fenantreen	1.3	0.36	0.00	0.00	0.00	0.00		0.01	0.00	- *	-	- *	- *	?	- *	- *
Indeno(1,2,3)pyreen	1.1	0.00								?	?	?	?	?	?	?
Anthraceen	0.37	0.11	0.02	0.01	0.04	0.04		0.06	0.02	- *	-	- *	- *	?	- *	- *
Benzo(k)fluorantheen	1.1	0.01			0.02	0.02		0.06		?	?	- *	- *	?	- *	?
Chryseen	2.8	0.04			0.06	0.06		0.24		?	?	- *	- *	?	+/- *	?
Fluorantheen	5.4	0.30	0.00	0.00	0.38	0.38		1.51	0.02	-	-	+/- *	+/- *	?	+	- *
som TE's PAK			0.03	0.02	0.61	0.61		2.35	0.05	-	-	+/-	+/-	?	+	-
ORGANOCHLOOR BESTRIJDINGSMIDDELEN (OCB's)																
Aldrin	0.0021	0.00			0.00	0.00		0.00	0.00	?	?	?	*	?	?	*
Dieldrin		0.00	0.00		0.00	0.00		0.00	0.00	- *	?	- *	- *	?	- *	- *
Endrin		0.00	0.00		0.00	0.00		0.00	0.00	?	*	?	?	?	?	*
som TE's			0.00		0.00	0.00		0.00	0.00	-	?	-	-	?	-	-
DDT	0.0047	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00		0.00	0.00	- *	-	- *	-	?	- *	- *
DDD	0.1	0.01			0.00	0.00		0.01	0.14	?	?	- *	- *	?	- *	+/- *
DDE	0.27	0.03							0.03	?	?	?	?	?	?	- *
som TE's			0.00	0.00	0.00	0.00		0.01	0.17	-	-	-	-	?	-	+/-
Endosulfan (alfa)		0.00	0.00		0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	?	*	?	?	*	?	*
alfa-HCH	0.0021	0.01	0.00		0.00	0.00		0.00		- *	?	- *	- *	?	- *	?
beta-HCH		0.00	0.00		0.00	0.00		0.00		?	*	?	*	?	?	?
gamma-HCH (lindaan)		0.00	0.00	0.00	0.00	0.00		0.00	0.00	?	*	?	?	?	?	*
som TE's			0.00	0.00	0.00	0.00		0.00	0.00	-	?	-	-	?	-	?
Heptachloor		0.00	0.00		0.00	0.00		0.00	0.00	?	?	?	*	?	?	*
Heptachloorepoxide		0.00			0.00	0.00		0.00		?	?	?	*	?	?	?
som TE's			0.00		0.00	0.00		0.00	0.00	?	?	?	?	?	?	?
som TE's OCB's			0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.01	0.17	-	-	-	-	?	-	+/-
CHLOORBENZENEN																
Hexachloorbenzeen	0.0058	0.00	0.00		0.00	0.00		0.00		-	?	- *	-	?	- *	?
OVERIGE																
Minerale olie	5700	54.80			0.00	0.00		0.01		?	?	- *	-	?	- *	?

Cpw = concentratie in poriewater berekend volgens evenwichtpartitie-methode (Van der Kooij et al., 1991)

* : gebaseerd op een afgeleide toxiciteitwaarde

Trefkans op detectie van toxiciteit

Locatie: **Kaag (referentielocatie)**
 Ecolims nr.: **300153**
 Foc: **0.141** fractie organisch koolstof (= % organische stof / 1,70 / 100)

Stoffen	Csd (mg/kg)	Cpw (µg/l)	Trefkans eenheden (TE= Cpw /tox.-waarde)							Trefkans ('-' = nihil, '+/-' = mogelijk, '+' = reeel, '?' = onbekend)						
			Acuut					Chronisch		Acuut					Chronisch	
			Alg	Bacterie	T. plat.	D. mag.	B. caly.	D. mag.	C. rip.	Alg	Bacterie	T. platyurus	D. magna	B. calycifl.	D. magna	C. riparius
gestand. gehalte																
METALEN																
Cadmium	1.12	0.0	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	-	-	-	-	-	-	*
Kwik	1.06	0.0	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.01	0.00	-	-	-	-	-	-	*
Koper	63.04	1.9	0.05	0.01	0.02	0.19	0.07	0.76	0.09	-	-	-	+/-	-	+/-	*
Nikkel	39.52	7.4	0.01	0.00	0.00	0.01	0.00	0.49		-	-	-	-	-	+/-	?
Lood	125.22	0.3	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.01	0.00	-	-	-	-	-	-	*
Zink	328.76	4.5	0.07	0.01	0.02	0.07	0.00	0.04	0.01	-	-	-	-	-	-	*
Chroom	36.96	0.2	0.00	0.00	0.01	0.00	0.00	0.00	0.00	-	-	-	-	-	-	*
Arseen	18.45	2.8	0.01	0.00	0.00	0.00	0.00	0.01		-	-	-	-	-	-	?
som TE's metaal			0.15	0.03	0.06	0.28	0.08	1.32	0.10	+/-	-	-	+/-	-	+	-
gemeten gehalte																
PAK's																
Naftaleen	0.21	0.75	0.00	0.00	0.00	0.00		0.00	0.00	-	-	-	-	?	-	*
Benzo(a)anthraceen	1.1	0.01		0.00	0.02	0.02		0.07		?	-	-	-	?	-	*
Benzo(ghi)peryleen	0.76	0.00			0.02	0.02		0.06		?	?	-	-	?	-	*
Benzo(a)pyreen	0.93	0.01	0.00		0.02	0.02		0.09		-	?	-	-	?	-	*
Fenantreen	0.47	0.12	0.00	0.00	0.00	0.00		0.00	0.00	-	-	-	-	?	-	*
Indeno(1,2,3)pyreen	0.62	0.00								?	?	?	?	?	?	?
Anthraceen	0.19	0.05	0.01	0.00	0.02	0.02		0.03	0.01	-	*	-	-	?	-	*
Benzo(k)fluorantheen	0.58	0.00			0.01	0.01		0.03		?	?	-	-	?	-	*
Chryseen	1.2	0.02			0.02	0.02		0.09		?	?	-	-	?	-	*
Fluorantheen	2.6	0.13	0.00	0.00	0.16	0.16		0.64	0.01	-	-	+/-	+/-	?	+/-	*
som TE's PAK			0.01	0.01	0.26	0.26		1.02	0.02	-	-	+/-	+/-	?	+	-
ORGANOCHLOOR BESTRIJDINGSMIDDELEN (OCB's)																
Aldrin		0.00			0.00	0.00		0.00	0.00	?	?	?	*	?	?	*
Dieldrin		0.00	0.00		0.00	0.00		0.00	0.00	?	*	?	?	*	?	*
Endrin		0.00	0.00		0.00	0.00		0.00	0.00	?	*	?	?	*	?	*
som TE's			0.00		0.00	0.00		0.00	0.00	?	?	?	?	?	?	?
DDT	0.0014	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00		0.00	0.00	-	*	-	-	*	-	*
DDD	0.017	0.00			0.00	0.00		0.00	0.02	?	?	-	-	*	-	*
DDE	0.022	0.00						0.00		?	?	?	?	?	?	*
som TE's			0.00	0.00	0.00	0.00		0.00	0.02	-	-	-	-	?	-	-
Endosulfan (alfa)		0.00	0.00		0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	?	*	?	?	*	?	*
alfa-HCH		0.00	0.00		0.00	0.00		0.00		?	*	?	?	*	?	*
beta-HCH		0.00	0.00		0.00	0.00		0.00		?	*	?	?	*	?	*
gamma-HCH (lindaan)		0.00	0.00	0.00	0.00	0.00		0.00	0.00	?	*	?	?	*	?	*
som TE's			0.00	0.00	0.00	0.00		0.00	0.00	?	?	?	?	?	?	?
Heptachloor		0.00	0.00		0.00	0.00		0.00	0.00	?	?	?	*	?	?	*
Heptachloorepoxide		0.00			0.00	0.00		0.00	0.00	?	?	?	*	?	?	*
som TE's			0.00		0.00	0.00		0.00	0.00	?	?	?	?	?	?	?
som TE's OCB's			0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.02	-	-	-	-	?	-	-
CHLOORBENZENEN																
Hexachloorbenzeen		0.00	0.00		0.00	0.00		0.00		?	?	?	*	?	?	*
OVERIGE																
Minerale olie	150	1.27		0.00	0.00			0.00		?	?	-	*	-	?	*

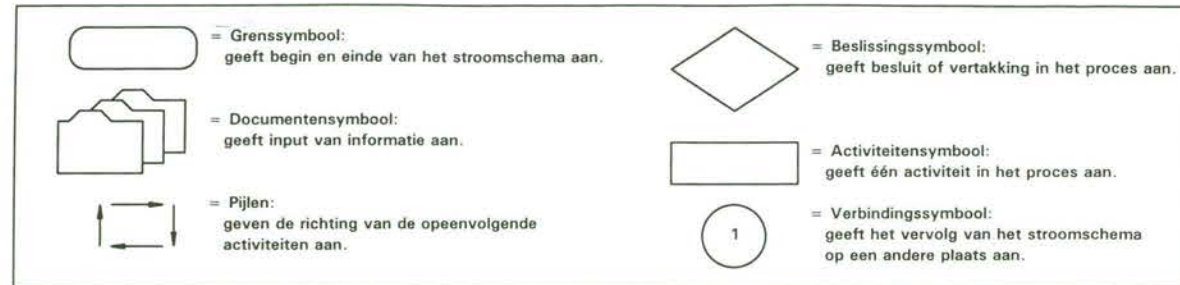
Cpw = concentratie in poriewater berekend volgens evenwichtpartitie-methode (Van der Kooij *et al.*, 1991)

* : gebaseerd op een afgeleide toxiciteitswaarde

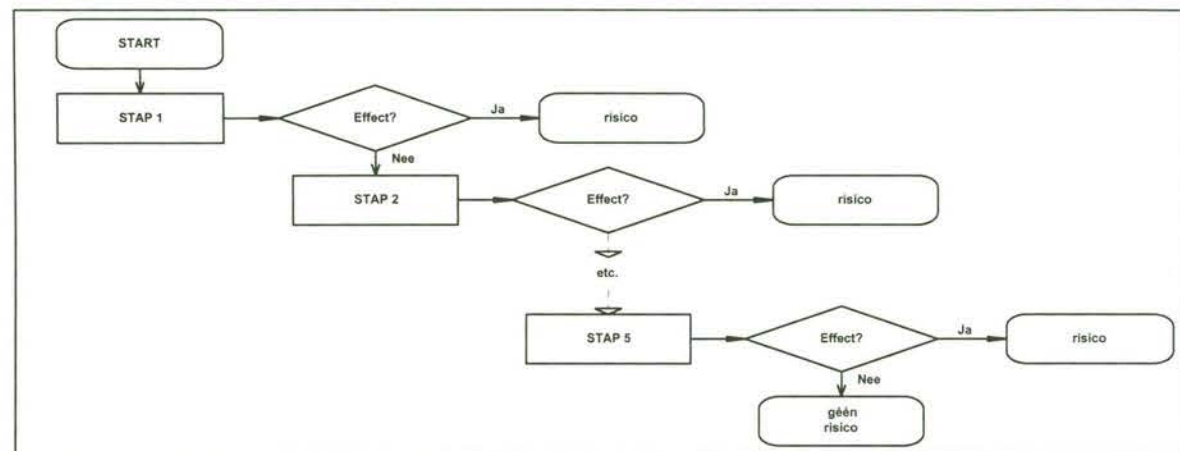
Toelichting bij stroomschema (figuur 6, rechterpagina)

Symbolen:

Voor de samenstelling van het schema is gebruik gemaakt van gestandaardiseerde stroomschemasymbolen, waarbij ieder symbool de volgende, vaste betekenis heeft:



Vereenvoudigde opbouw van het schema:



Gebruiksaanwijzing:

1. Begin met de eerste stap (bijv. uitvoering screeningtesten);
2. Is er een effect? (zie de onderdelen E van bijlage 10);
3. En is dit effect verklaarbaar? (zie 7.1.3);
4. Dan is er sprake van een actueel risico a.g.v. de betreffende stof(groep) en kan de beoordeling worden gestopt: de saneringsurgentie van de betreffende stof(groep) is daarmee ecotoxicologisch onderbouwd;
5. Indien er géén (verklaarbaar) effect is, vervolg dan met de volgende stap (bijv. chronische bioassays);
6. Ga hiermee net zolang door totdat een verklaarbaar effect is waargenomen;
7. Is na het doorlopen van alle vijf stappen nog géén verklaarbaar effect waargenomen, dan kan voor het betreffende geval worden

gesteld dat er ondanks de ernstige waterbodemonverontreiniging géén actueel risico aannemelijk is in de huidige situatie.

Hiermee is dus de route 'URGENT, TENZIJ' ingevuld: er is géén actueel, ecologisch risico en derhalve wordt aanbevolen om het 'chemische' oordeel URGENT om te buigen in NIET URGENT.

Andere dan aanbevolen volgorde van stappen:

Indien ervoor wordt gekozen om bijvoorbeeld als eerste stap te beginnen met het toepassen van veldinventarisatietechnieken, dan wordt echter wel aanbevolen om de eventuele negatieve effecten, die hiermee zijn waargenomen, te valideren. Dit kan worden gedaan door ook een (verklaarbaar) negatief effect waar te nemen met minimaal een van de overige technieken (acute of chronische bioassays of bioaccumulatietest). Deze aanbeveling wordt gedaan omdat de resultaten van veldtechnieken (nog) minder stofspecifiek zijn dan de resultaten van bioassays (zie verder de toelichting in de hoofdtekst van paragraaf 7.1).

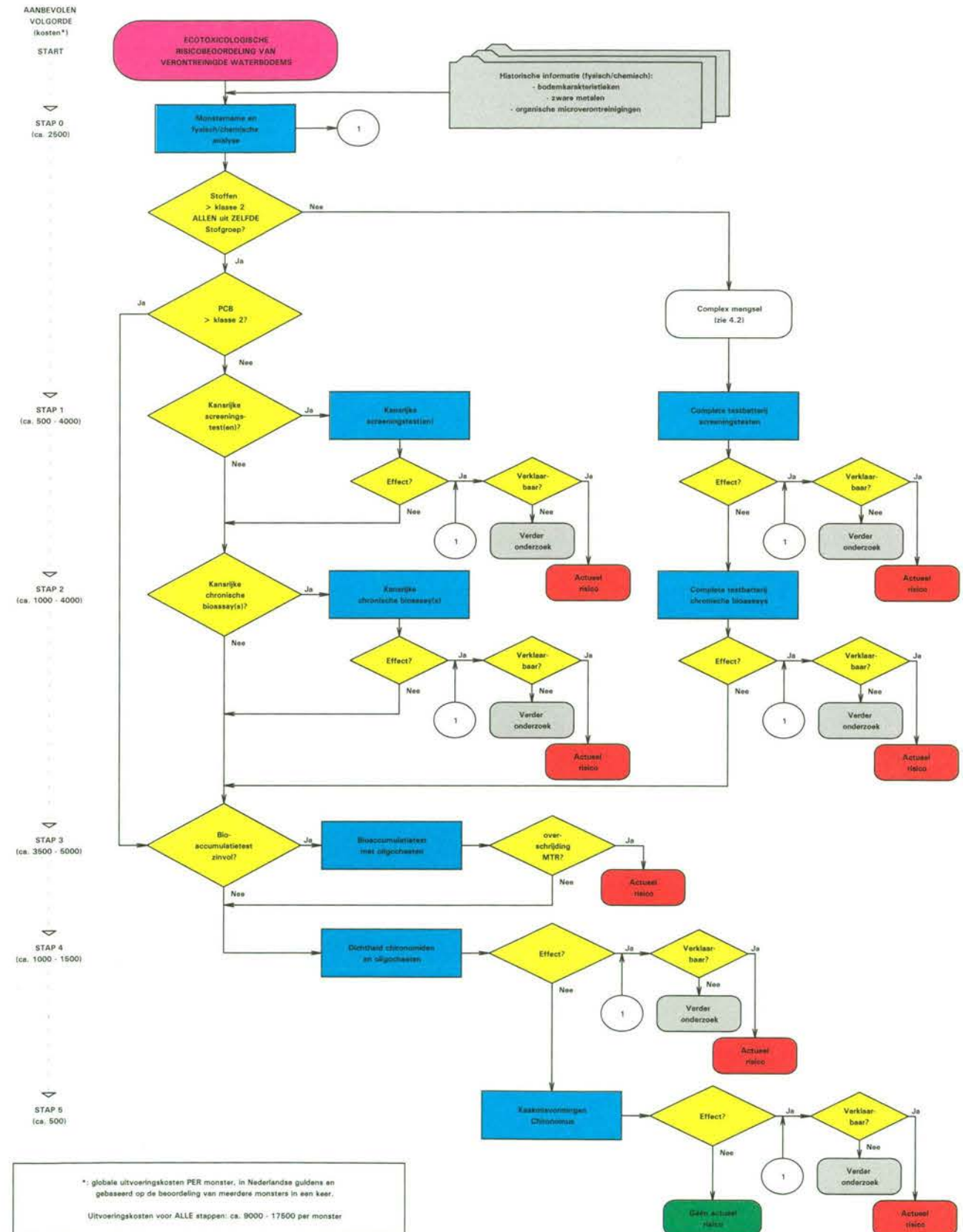


Fig. 6 Keuzesysteem voor de ecotoxicologische beoordeling van verontreinigde waterbodems (zie de gebruiksaanwijzing op linkerpagina). De weergegeven volgorde van stappen is aanbevolen en wordt verder toegelicht in de tekst van paragraaf 7.1.

NB: Het is ook mogelijk om op andere plaatsen in het stroomschema te beginnen.



C20033 RIZA E
WATERBODEN
2646