

Flock & Lock in De Rauwbraken

Strandbad en Onderwaterpark



Een innovatief experiment om blauwalgenbloei
te voorkomen door vastleggen van fosfaat

M. Lurling & J.F.X. van Oosterhout

Januari 2009

AQWA *ter kwaliteitsbeheer
uatische ecologie*



WAGENINGEN UR

For quality of life

Flock & Lock in De Rauwbraken

Strandbad en Onderwaterpark



Een innovatief experiment om blauwalgenbloei
te voorkomen door vastleggen van fosfaat

M. Lurling & J.F.X. van Oosterhout

Januari 2009

Rapportnummer M347
Leerstoelgroep Aquatische Ecologie & Waterkwaliteitsbeheer



WAGENINGEN UR

For quality of life

Dit eerste rapport over de innovatieve aanpak van eutrofiëring in De Rauwbraken zal bij continuering van de monitoring en aanvullende experimenten, gevolgd worden door meerdere beschrijvingen van de ontwikkelingen en de bevindingen. Hier worden de eerste resultaten gepresenteerd, inclusief de metingen van voor de ingreep.

Flock & Lock is ontwikkeld door de LSG Aquatische Ecologie en Waterkwaliteitsbeheer van de Wageningen Universiteit. De toediening is geschied door het Limnologisch Instituut Dr. Nowak (Duitsland). De applicatie en het onderzoek worden mede mogelijk gemaakt door financiële bijdrages van de Gemeente Tilburg, Waterschap De Dommel en de Provincie Noord-Brabant. Het onderzoek is uitgevoerd en gerapporteerd door dr ir M. Lurling (onderzoeker) en drs. J.F.X. van Oosterhout (toegevoegd onderzoeker).

CONTACT

Leerstoelgroep Aquatische Ecologie & Waterkwaliteitsbeheer

Droeendaalsesteeg 3

6708 PB Wageningen

alternatief:

Postbus 47

6700 AA Wageningen

Tel: 0317-483898

Email: miquel.lurling@wur.nl



www.blauwalg.wur.nl

Inhoudsopgave

SAMENVATTING	7
1. INLEIDING	9
2. FLOCK & LOCK	11
In De Rauwbraken: Phoslock® – vlokken - Phoslock®	12
3. Monitoring 2008	14
Fosfaat in De Rauwbraken	15
Troebelheid in De Rauwbraken	16
Doorzicht in De Rauwbraken	17
Chlorofyl in De Rauwbraken	18
Zuurstof en zuurgraad in De Rauwbraken	19
Aluminium	21
Lanthaan	22
IJzer en Zwavel	23
Zoöplankton	24
Muggenlarven	25
4. Observaties	26
5. Conclusie 2008	29
6. Referenties	30
Bijlage 1 Lanthaan, Phoslock® en <i>Daphnia</i>	33

Samenvatting

Na twee jaar intensieve voorbereiding, is op 21, 22 en 23 april 2008 De Rauwbraken behandeld met een vlokmiddel en een gemodificeerde klei (Phoslock[®]) om een einde te maken aan de toenemende blauwalgenoverlast. Daar waar er op 20 april nog een dikke drijflaag van *Aphanizomenon* werd aangetroffen, bleek de behandeling deze rap te doen afzinken naar diepere waterlagen. Het vlokmiddel maakte het water zeer helder, waarna toediening van de klei resulteerde in een blauw “gletsjermeer”. Geleidelijk zakte de klei uit de waterkolom en werd de Rauwbraken kraakhelder met als hoogtepunt bodemzicht (10.2 m) vanaf de pontonbrug.

De behandeling was gericht op een sterke reductie van de hoeveelheid blauwalgen door het wegvangen van de belangrijkste voedselbron fosfaat. Na de behandeling waren de totaalfosfaat- en chlorofyl-*a* concentraties vele malen lager dan ervoor en werd het water in de diepere delen niet zuurstofloos. Door de behandeling werd er wel een korte overschrijding van de *ad-hoc* MTR voor aluminium en van de MTR voor lanthaan geconstateerd. In beide gevallen leverde dit absoluut geen risico voor badgasten, of voor het ecosysteem, vanwege de gunstige zuurgraad van het water en de biologische non-beschikbaarheid van lanthaanmineralen.

Watervlooien (*Daphnia*) verdwenen een week na de behandeling uit de waterkolom wegens voedselgebrek, maar keerden in oktober in grote aantallen terug. De waterplantminnende soort *Simocephalus vetulus* was gedurende het voorjaar en de zomer in grote aantallen aanwezig tussen de sterk uitbreidende waterplanten (voornamelijk *Elodea nuttallii*). In de waterfase werden gedurende het voorjaar en de zomer kleinere watervlooien zoals *Ceriodaphnia* en *Bosmina* gezien. Roeipootkreeftjes (copepoda) waren de gehele tijd aanwezig met een duidelijke piek in de zomer.

Muggenlarven werden zowel voor als na de applicatie op 10 m diepte aangetroffen in aantallen oplopende tot 3000 individuen m⁻².

Onderwaterobservaties leerden dat *E. nuttallii* tot en met 9 meter diepte in hoge dichtheden groeide, dat de waterplanten beschutting boden aan vele macrofaunasoorten en visbroed van bijvoorbeeld zeelt. Echter ook werd geconstateerd dat een groot deel van de ingebrachte Phoslock[®] in de zuidhoek van de plas ligt en niet in de diepste delen, daar waar het zou moeten liggen. Windtijdens en na de applicatie heet waarschijnlijk voor deze afwijking gezorgd.

De behandeling kan voor 2008 als zeer succesvol worden geduid. Strandbad De Rauwbraken kon op 26 april haar deuren openen voor recreanten. Dit was zonder behandeling vanwege de giftige blauwalgenbloei niet mogelijk geweest.

1 Inleiding

Strandbad de Rauwbraken is een natuurzwembad in stadsdeel Berkel-Enschot (gemeente Tilburg). Het gebruik omvat zwemmen, dagrecreatie, buitensport en -spel, duiken en natuureducatie. Strandbad de Rauwbraken vervult een belangrijke buurtfunctie, het onderwaterpark heeft landelijke uitstraling.

Sinds 2000 wordt in de Rauwbraken een toenemende bloei¹ van blauwalgen waargenomen. Door deze bloei treedt een overschrijding van de zwemwaterkwaliteitsnorm op. Het doorzicht is in deze situatie te gering (minder dan 1 meter), de microcystine² concentratie en celdichtheid³ van blauwalgen zijn te hoog. Wegens deze normoverschrijding was het strandbad periodiek en met toenemende duur gesloten voor publiek. In 2005 was de Rauwbraken acht weken dicht en in 2007 kon het strandbad slechts drie weken geopend zijn. Zonder ingreep zal de bloei van blauwalgen in de Rauwbraken jaarlijks terugkeren (*Figuur 1*). Door de verwachte klimatologische veranderingen is de kans groot dat de duur en omvang van blauwalgenbloei zal toenemen [Roijsackers & Lurling, 2007; Paerl & Huisman, 2008].



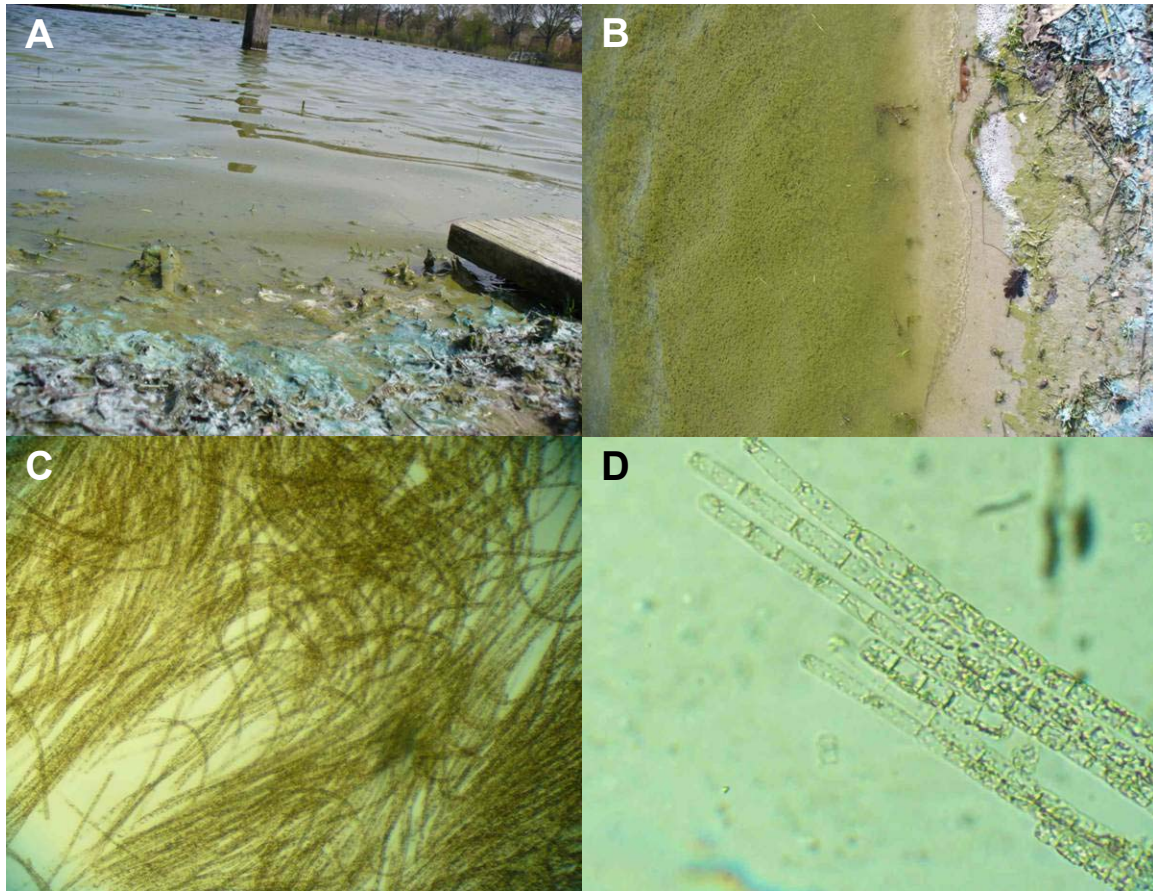
Figuur 1: Blauwalgenbloei en overlast in De Rauwbraken

¹ De bloei van blauwalgen is het voorkomen van een extreem grote hoeveelheid van deze algen.

² Door blauwalgen geproduceerde gifstoffen.

³ Aantal cellen of draden per liter

In april 2008 werden in de Rauwbraken vlokken en drijfslagen van blauwalgen waargenomen. Het betrof hier voornamelijk de giftige *Aphanizomenon* (Figuur 2). Dieper in waterkolom (7-10 m) bleek *Planktothrix rubescens* te zitten. Deze eveneens giftige blauwalg kleurde in 2005 de Rauwbraken helemaal rood.



Figuur 2: Drijfslag van blauwalgen (paneel A) en nabij de oever samenkomende vlokken (paneel B) op De Rauwbraken in april 2008. Vlokken en drijfslag bestonden uit *Aphanizomenon* (Panelen C & D).

De in de figuren 1 & 2 weergegeven opeenhopingen van blauwalgen, zijn de overduidelijk zichtbare symptomen van overmatige verrijking van het water met meststoffen, zogeheten eutrofiëring [Fogg, 1969; Reynolds, 1987; Reynolds & Walsby, 1975; Paerl, 1998, 2008]. Omdat de belangrijkste oorzaak van eutrofiëring fosfaatvervuiling is [Schindler, 1974; 1975; 1977; Correll, 1998], is fosfaatcontrole verreweg de belangrijkste remedie om eutrofiëring, en vooral de erdoor veroorzaakte blauwalgenbloei, te beteugelen [Carpenter, 2008; Schindler *et al.*, 2008]. Fosfaatcontrole vergt naast een sterke reductie van de invoer vanuit punt- en diffuse bronnen ook fosfaatverwijdering uit de waterkolom en fosfaatverwijdering van, of –retentie in, de onderwaterbodems [Welch & Cooke, 1995; Carpenter *et al.*, 1998; Søndergaard *et al.*, 2003; Mehner *et al.*, 2008].

In Nederland zijn vanaf de begin jaren 80 diverse restauratie technieken geïmplementeerd met als doel geëutrofeerde wateren te herstellen. Helaas zijn er meer mislukkingen dan successen geboekt wat vooral veroorzaakt lijkt door onvoldoende of niet meegenomen fosfaatcontrole in het water en waterbodems [Gulati & Van Donk,

2002]. Een welkome aanvulling op het beschikbare maatregelenpakket, lijkt nu te worden geboden door een innovatieve, gemodificeerde klei (Phoslock®), die ontwikkeld is door het Australische CSIRO, zeer efficiënt is in het strippen van fosfaat uit de waterkolom en in het vastleggen van fosfaat dat vrijkomt uit het sediment [Robb *et al.*, 2003; Akhurst *et al.*, 2004; Ross *et al.*, 2008].

In de Rauwbraken lijkt de interne fosfaatbron zeer belangrijk, is er een toevoer van fosfaat door kwel en is er gedurende grote delen van het jaar veel van het fosfaat in particuliere vorm in de waterkolom aanwezig [van Oosterhout, 2007; van Oosterhout & Lurling, 2007]. Diverse inrichtingsmaatregelen, zoals herstellen van de oevervegetatie, reductie van bladinvall, uitzetten van waterplanten, bleken in de Rauwbraken niet voldoende om de blauwalgenbloei te voorkomen [van Oosterhout, 2007].

Vanwege de nalevering van fosfaat uit het sediment, de toevoer door fosfaatrijke kwel en de grote hoeveelheid in lagen opgeslagen fosfor in de waterkolom, is in april 2008 een innovatieve behandeling van de Rauwbraken uitgevoerd: Een combinatie van een vlokmiddel (Polyaluminiumchloride, PAC) en een fosfaatfixatief (Phoslock®). Deze methode heeft de naam “Flock & Lock” verkregen.

2 Flock & Lock

Het principe achter de Flock & Lock methode is dat alle in het water aanwezige fosfaat (zowel opgelost als in particuliere vorm) naar de onderwaterbodem worden geprecipiteerd (PAC), waarna een fosfaatfixatief (Phoslock®) zorgt voor verwijdering van opgelost fosfaat uit de waterkolom, een dun laagje als afdekking van de onderwaterbodem vormt en hier het bij afbraak van neergeslagen organisch materiaal vrijkomende fosfaat wegvangt.

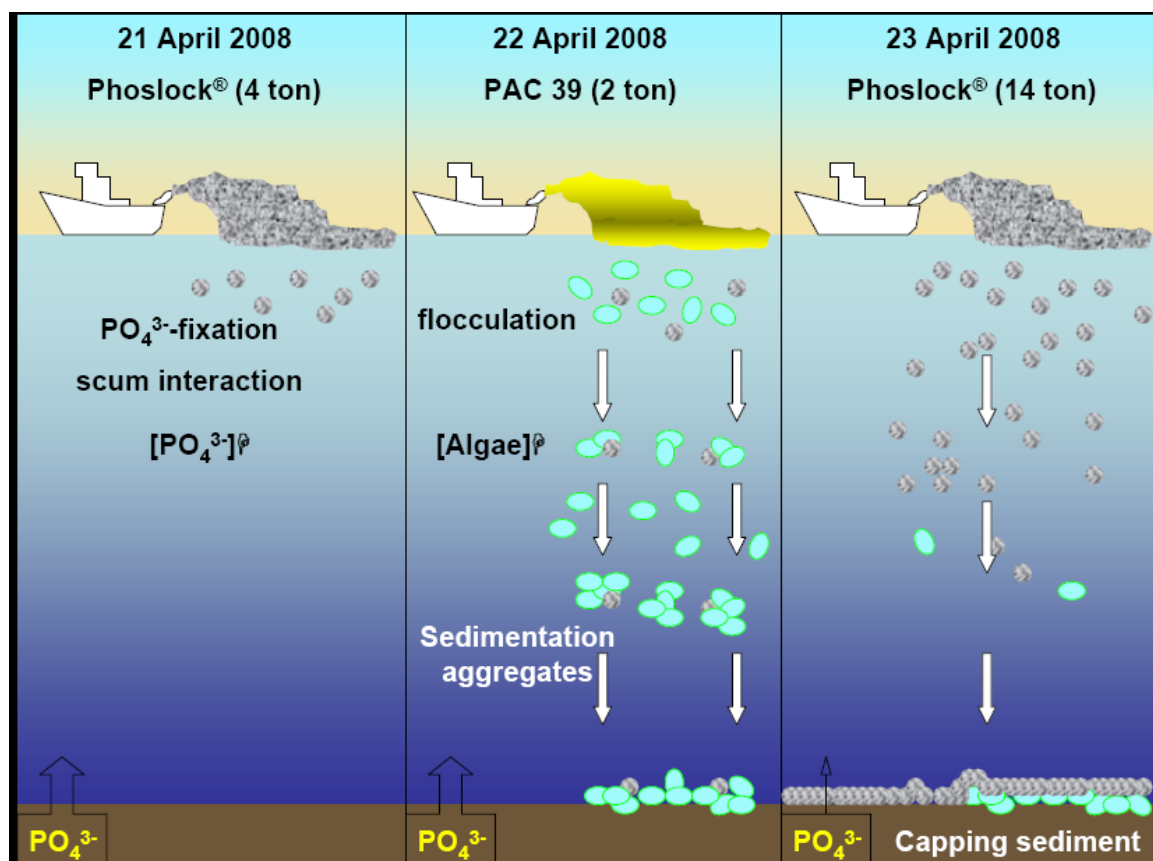
Er zijn diverse middelen beschikbaar om te vlokken. Er is voor de Rauwbraken gekozen om met een aluminiumverbinding te vlokken [van Oosterhout & Lurling, 2007]. Het onderliggende werkingsmechanisme is bekend en aluminiumzouten worden wijdverbreid toegepast om fosfaat te precipiteren en te inactiveren (Cooke *et al.*, 1993). Bij normale zuurgraad van het water zal toediening van aluminiumzouten resulteren in de vorming van amorfe, polymere aluminiumhydroxides: $\text{Al}(\text{OH})_3$. Dit aluminiumhydroxide vormt vlokken, die tijdens sedimentatie particulier materiaal, waaronder algen, en fosfor binden en die eenmaal op het sediment een reactieve barrière vormen wat fosfaatafgifte uit het sediment verhindert (McLaughlin *et al.*, 1981; Cooke *et al.*, 1993; Rydin & Welch, 1998; 1999; Lewandowski *et al.*, 2003; Drábková, 2007).

Gebruikelijke doseringen variëren van 1 tot 25 mg Al l⁻¹, terwijl in sommige gevallen zelfs gedurende 15 jaar vrijwel jaarlijks 2 mg Al l⁻¹ per jaar aan een meer werd toegevoegd (Welch & Cooke, 1999; Lewandowski *et al.*, 2003; Auvray *et al.*, 2006; Drábková, 2007). In de Rauwbraken zal 2 ton PAC39 worden toegepast (hierin is 39% w/w aluminium als Al_2O_3). De concentratie zal dan gemiddeld 1.37 mg Al l⁻¹ bedragen. Om een pH val te voorkomen wordt de PAC gebufferd met 200 kg Ca(OH)₂.

De fosfaatfixatie zal geschieden door applicatie van een met lanthaan gemodificeerde klei (Phoslock®). Lanthaan is een zeldzaam aardmetaal met een zeer hoge affiniteit voor oxyanionen en speciaal fosfaat. Lanthaanionen vormen met fosfaat het onder natuurlijke omstandigheden onoplosbare mineraal rabdofaan: $\text{La}^{3+} + \text{PO}_4^{3-} \rightarrow \text{LaPO}_4 \cdot n\text{H}_2\text{O} (\text{s})$. Dit mineraal heeft een extreem laag oplosbaarheidsproduct $K_{\text{sp}} = 10^{-24.7}$ tot $10^{-25.7} \text{ mol}^2 \text{ l}^{-2}$ (Johanneson & Lyons, 1994; Liu & Byrne, 1997).

In De Rauwbraken: Phoslock® – vlokken - Phoslock®

Op 21 april 2008 werd begonnen met de maatregelen om blauwalgenoverlast in de Rauwbraken te beteugelen. Allereerst is op 21 april 4 ton Phoslock® in het water gebracht om de in het water aanwezige fosfaten vast te leggen (*Figuur 3*). Daarna is op 22 april 2 vlokmiddel (PAC39) en 200 kg calciumhydroxide (voor zuurgraadregulatie) toegediend om de reeds abundant aanwezige blauwalgen te vlokken en te laten bezinken. Tenslotte is er op 23 april 14 ton Phoslock® in het water gebracht om het resterende fosfaat in de waterkolom vast te leggen en zowel de bezonken algen als de fosfaatrijke onderwaterbodem in vooral de diepere delen toe te dekken (*Figuur 3*). De verwachting is dat door het irreversibel vastleggen van de overmaat aan fosfaten wordt de blauwalgen een belangrijke voedingsbron ontnomen en zullen zij niet meer massaal tot ontwikkeling kunnen komen.



Figuur 3: Schematische weergave van de behandeling in De Rauwbraken met als doel overmatige blauwalgenbloei uit te bannen.

Het Duitse onderzoeksinstituut Limnologisch Institut Dr. Nowak (Ottersberg, Duitsland) zorgde voor de toediening. Vanaf een ponton werd een met Rauwbraken gemaakte slurrie van Phoslock® de plas in gebracht. Met behulp van GPS-navigatie werd overal in de plas gedoseerd, met uitzondering van het ondiepe zwembaddeel.



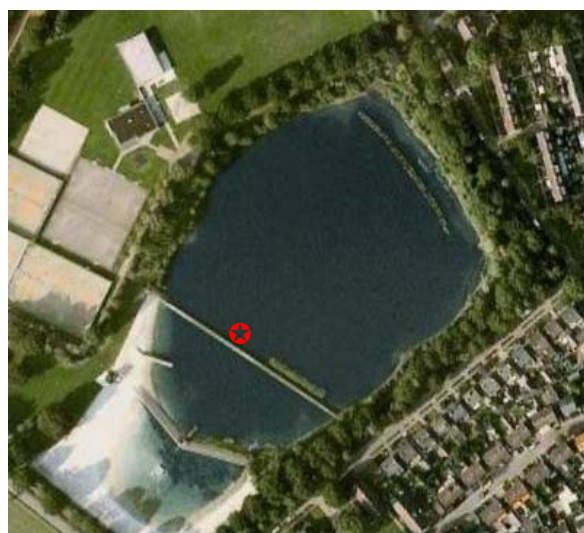
Figuur 4: Behandeling van De Rauwbraken met Phoslock® (in Duitsland onder de naam Bentophos op de markt gebracht) resulterend in een “blauw gletsjermeer”.

3 Monitoring 2008

De Flock & Lock behandeling was gericht op het reduceren van de hoeveelheden fosfaat in de waterkolom, het reduceren van de hoeveelheid particulier fosfor en het reduceren van de aanvoer van fosfaat uit het sediment en de kwel. In dit hoofdstuk worden het verloop van de fosfaatconcentraties in De Rauwbraken, van de troebelheid, van het doorzicht, van de hoeveelheid chlorofyl-*a*, van de zuurstofconcentraties, van de zuurgraad, van de metalen aluminium, ijzer en lanthaan, van zwavel, van de watervlooien en van muggenlarven beschreven.

Voor de fosfaat- en zuurstofconcentraties, voor chlorofyl-*a*, voor de zuurgraad, voor doorzicht en troebelheid zijn meerjarige meetseries beschikbaar. Voor de metalen, zwavel, watervlooien en muggenlarven zijn gegevens van net voor de behandeling en in de periode erna verzameld.

De bemonstering geschiedde vanaf de pontonbrug over de diepte met 1 meter interval (aangegeven met een ★ in *Figuur 5*). Hiervoor werd gebruik gemaakt van een Uwhitech 1 liter waterhapper en een elektrische pomp (*Figuur 6*). Voor zooplankton werd gebruik gemaakt van een 52 µm net, voor muggenlarven werden 10 locaties langs de pontonbrug op 10 m diepte bemonsterd met een Eckmanhapper (*Figuur 6*).



Figuur 5: Bemonsteringslocatie in De Rauwbraken

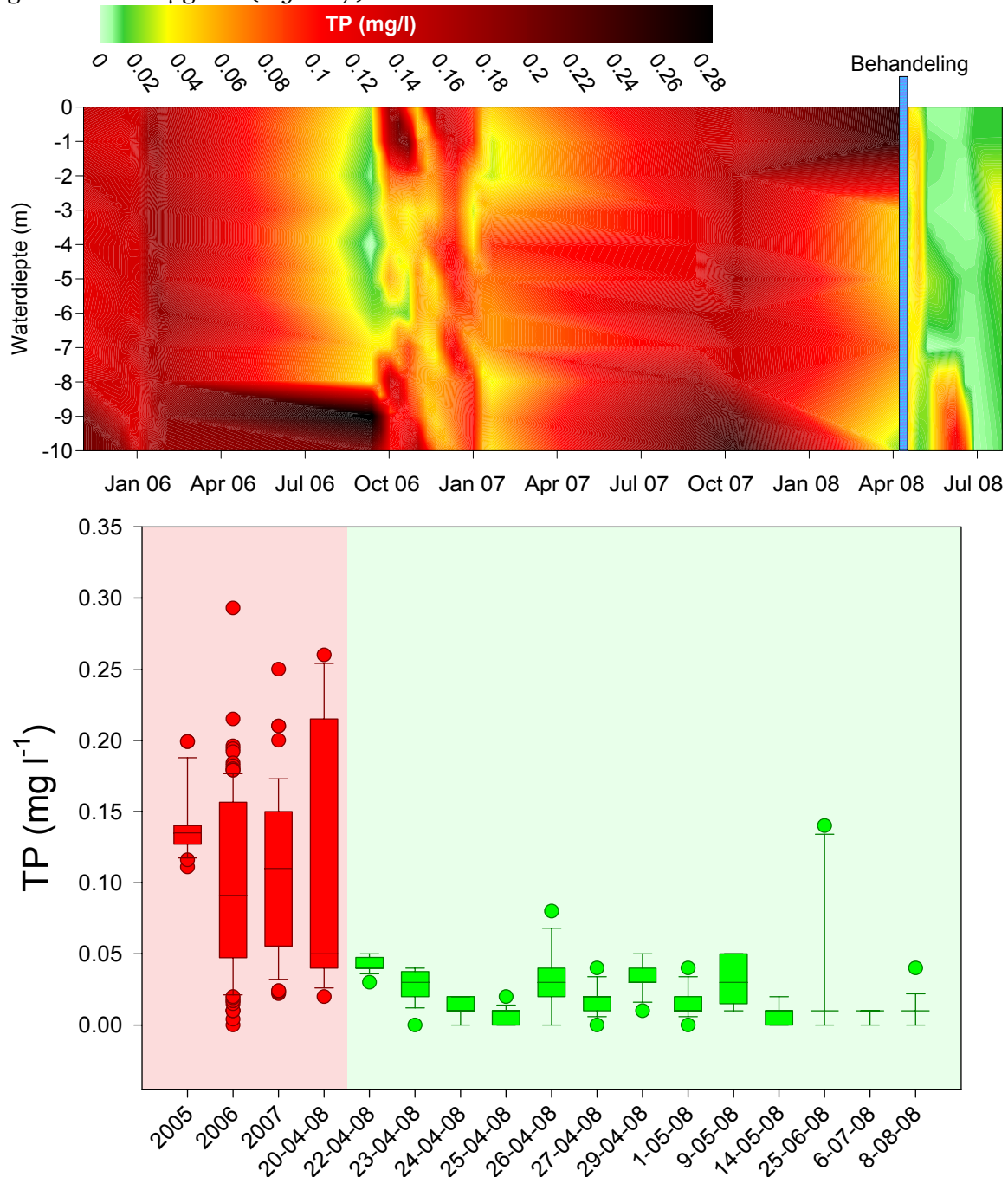
De metalenanalyses zijn verricht in het Servicelaboratorium Bodemkunde (WUR). Monsters voor totaal metaalgehalte zijn eerst gedestruëerd in HNO₃-HCl (Aqua-Regia) en daarna gemeten op de ICP-MS of ICP-AES Varian (Zwavel).



Figuur 6: Van links naar rechts zijn een Eckmanhapper, zoöplanktonnet, bemonstering vanaf de pontonbrug met behulp van een elektrische pomp en een waterhapper weergegeven.

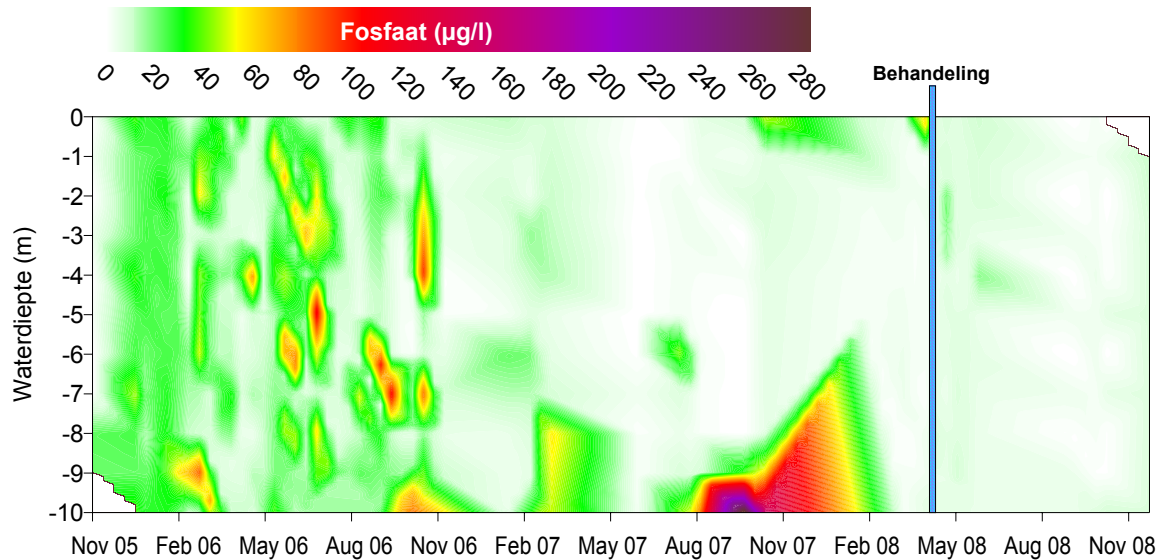
Fosfaat in De Rauwbraken

De concentratie totaal-fosfaat (TP) in de Rauwbraken is bepaald volgens NEN 6663 (NEN: Nederlands Normalisatie-instituut). De TP concentratie kende in de periode voor de behandeling waarden van gemiddeld $107 \mu\text{g P l}^{-1}$ met uitschieters tot $300 \mu\text{g P l}^{-1}$ (Figuur 7). Na de behandeling is de TP concentratie drastisch gereduceerd en bedraagt gemiddeld $20 \mu\text{g P l}^{-1}$ (Figuur 7).



Figuur 7: Het verloop van de totaal-fosfaatconcentratie (TP, mg l^{-1}) over de diepte in De Rauwbraken (bovenste paneel) en als gemiddelde door middel van boxplots weergegeven voor (rood) en na de behandeling (groen).

De concentratie ortho-fosfaat is gemeten volgens NEN 6663 na filtratie van het watermonster over een 0.45 µm filter. Vanwege de lage fosfaatconcentraties in de periode na de applicatie zijn monsters zowel gemeten op een SKALAR autoanalyzer als op de ICP-MS. Fosfaatconcentraties voor de applicatie waren hoger dan in de periode erna. Met name in 2007 is duidelijk een hoger fosfaatconcentratie waarneembaar in het anoxische hypolimnion (*Figuur 8*). Dit fenomeen zien we niet terug in 2008.

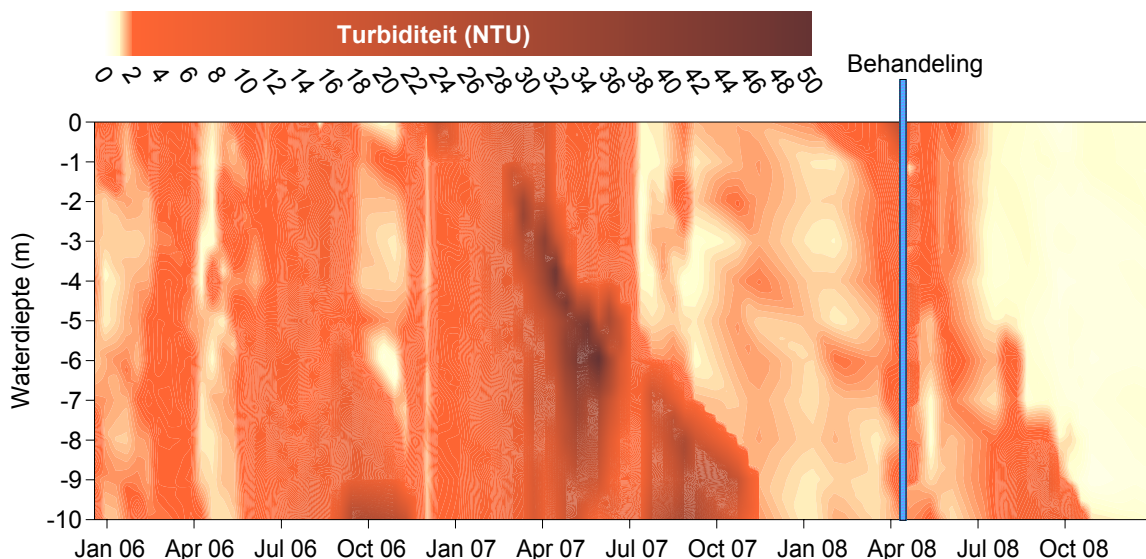


Figuur 8. Het verloop van de ortho-fosfaatconcentratie (PO_4^{3-} , $\mu g\ l^{-1}$) over de diepte in De Rauwbraken.

Troebelheid in De Rauwbraken

De troebelheid (of turbiditeit, in NTU) in de Rauwbraken is bepaald met behulp van een Hach 2100 P turbiditeitmeter. De turbiditeit wordt uitgedrukt in 'Nephelometric Turbidity Units' (NTU). Een klein glazen cuvet wordt gevuld met monsterwater. In de turbiditeitsmeter wordt een lichtstraal door het cuvet gestuurd. Een lichtcel aan de zijkant van het cuvet meet de hoeveelheid licht die door verstrooiing loodrecht afwijkt van de oorspronkelijke richting van de uitgezonden lichtstraal. Hoe groter de verstrooiing, des te hoger de turbiditeit. In de praktijk is gebleken dat de nephelometrische turbiditeit nauw overeenkomt met de verstrooiingscoëfficiënt (Kirk, 1994).

Voor de behandeling kende de Rauwbraken periodes met zeer troebel water, of waren er over de diepte strata met een hoge turbiditeit te vinden. De gemiddelde turbiditeit in deze periode bedroeg 5.3 NTU. Na de behandeling werd het water allereerst troebel vanwege de ingebrachte klei, maar deze sedimenteerde geleidelijk uit de waterkolom waarna zeer helder water resteerde met een turbiditeit van minder dan 1 NTU (*Figuur 9*).



Figuur 9: Het verloop van de turbiditeit (NTU) over de diepte in De Rauwbraken waar na de Flock & Lock behandeling zeer helder water met een turbiditeit van < 1 NTU ontstaat.

Doorzicht in De Rauwbraken

Gekoppeld aan de troebelheid is het doorzicht. Het doorzicht is bepaald met behulp van een Secchi-schijf (Figuur 10).

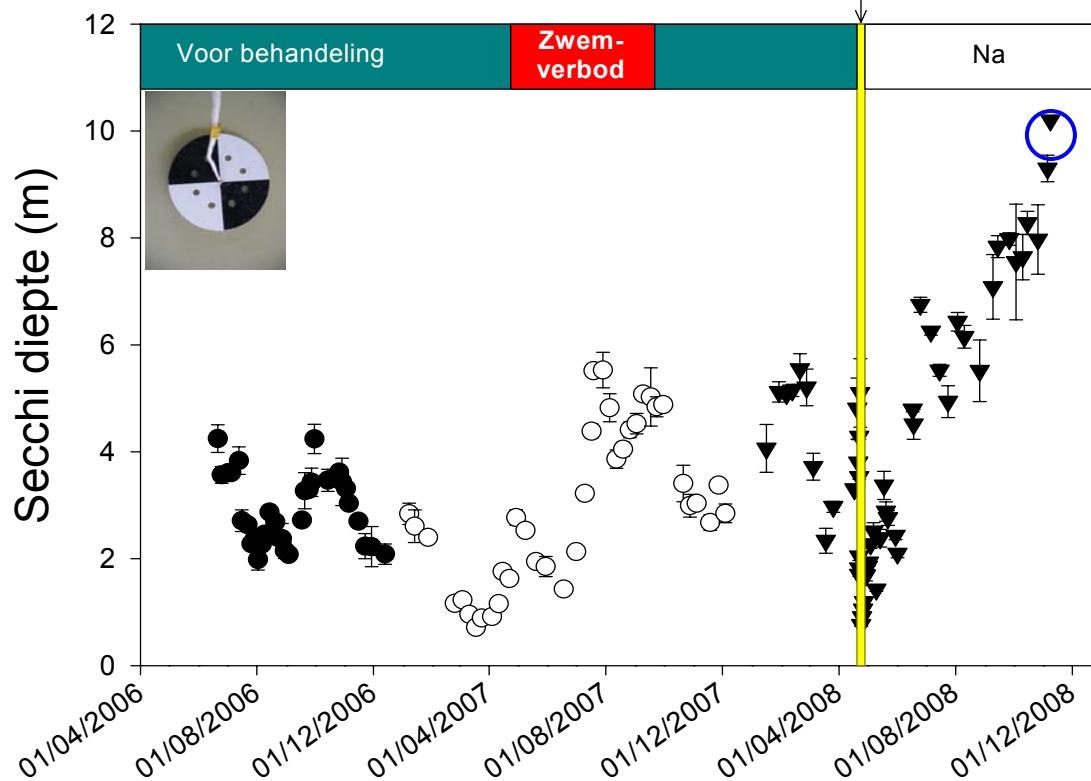
Door het inbrengen van 4 ton Phoslock® op 21 april werd het doorzicht gereduceerd van gemiddeld 3.5 m naar 1.7 m. Toen de volgende dag het vlokmiddel werd toegediend nam het doorzicht toe tot bijna 6 m, maar de 14 ton Phoslock® die op 23 april werden toegevoegd reduceerden het doorzicht tot 0.76 m (Figuur 10). Hierna nam het doorzicht gestaag toe tot meer dan 10 m in november 2008. Er was op dat moment bodemzicht vanaf de pontonbrug. Dit was daarvoor nimmer gemeten (Figuur 10).

Chlorofyl in De Rauwbraken

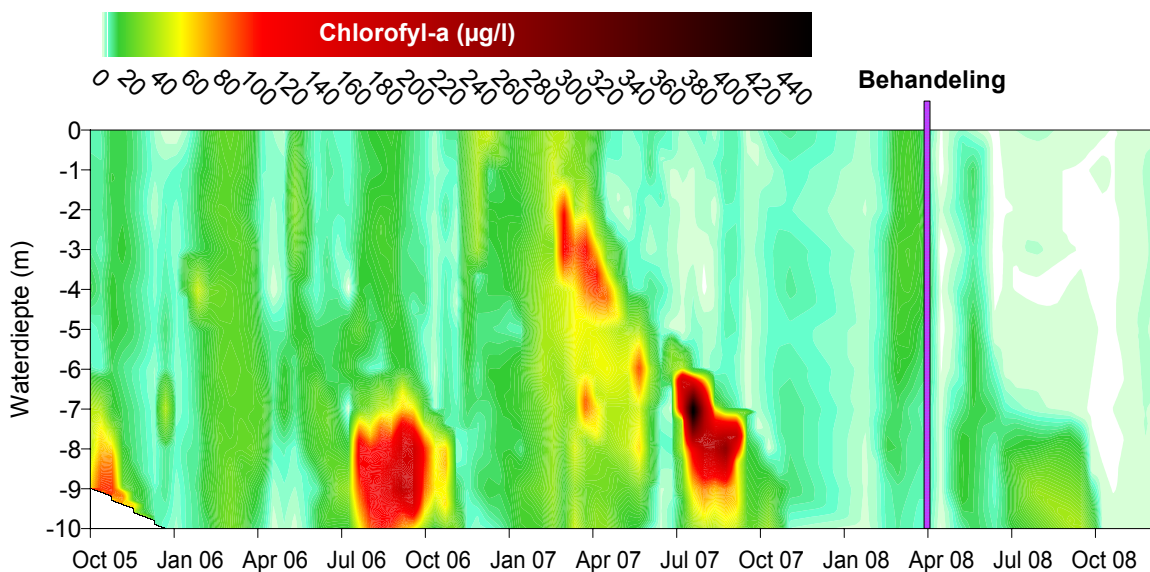
Van elk monster wordt 500 tot 1000 ml water gefiltreerd over een glasvezelfilter (GF52). Het filter wordt direct in een kunststof schaalje overgebracht, ingepakt in aluminiumfolie en opgeslagen bij -20°C , zodat het chlorofyl-*a* niet kan degraderen. In het laboratorium is van elk monster het chlorofyl-*a* gehalte bepaald met behulp van een spectrofotometrische methode volgens NEN 6520.

Voor de behandeling was de gemiddelde chlorofyl-*a* concentratie over de waterkolom $19.3 \mu\text{g l}^{-1}$, na de behandeling was dit $3.9 \mu\text{g l}^{-1}$. De zomergemiddeldes van 2006 en 2007 (maanden juli, augustus en september) waren gemiddeld 33.2 en $32.2 \mu\text{g l}^{-1}$, terwijl dit in 2008 gereduceerd was tot $7.4 \mu\text{g l}^{-1}$ (Figuur 11). De zeer hoge chlorofyl-*a* concentraties in diepere strata, zoals waargenomen in 2005, 2006 en 2007, die veroorzaakt werden door *Planktothrix rubescens*, zijn in 2008 niet waargenomen. Wel was er een verhoogde

chlorofyl-*a* concentratie tussen juli en oktober 2008 op 9 en 10 meter diepte (*Figuur 11*) wat bij microscopische analyse bleek te worden veroorzaakt door zeer kleine cyanobacteriën, zoals *Cyanobacterium* sp. en *Cyanobium* sp. Behandeling

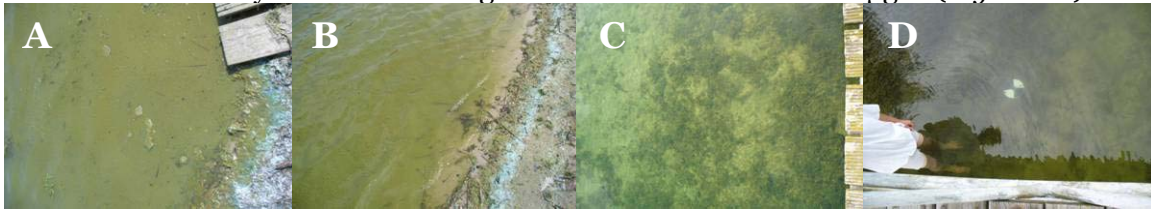


Figuur 10: Het verloop van het doorzicht, gemeten met een Secchi-schijf in De Rauwbraken voor en na de behandeling. De blauwe cirkel geeft bodemzicht (10.2 m) aan.



Figuur 11: Het verloop van de chlorofyl-*a* concentratie ($\mu\text{g l}^{-1}$) over de diepte in De Rauwbraken voor (oktober 2005 – april 2008) en na (april – december 2008) de Flock & Lock behandeling.

Vlak voor de behandeling werden er drijflagen aangetroffen in het ondiepe- en diepe zwembaddeel met een chlorofyl-*a* concentratie van 8000 µg l⁻¹. Na de behandeling met PAC was de chlorofyl-*a* concentratie gereduceerd tot minder dan 1 µg l⁻¹ (*Figuur 12*).

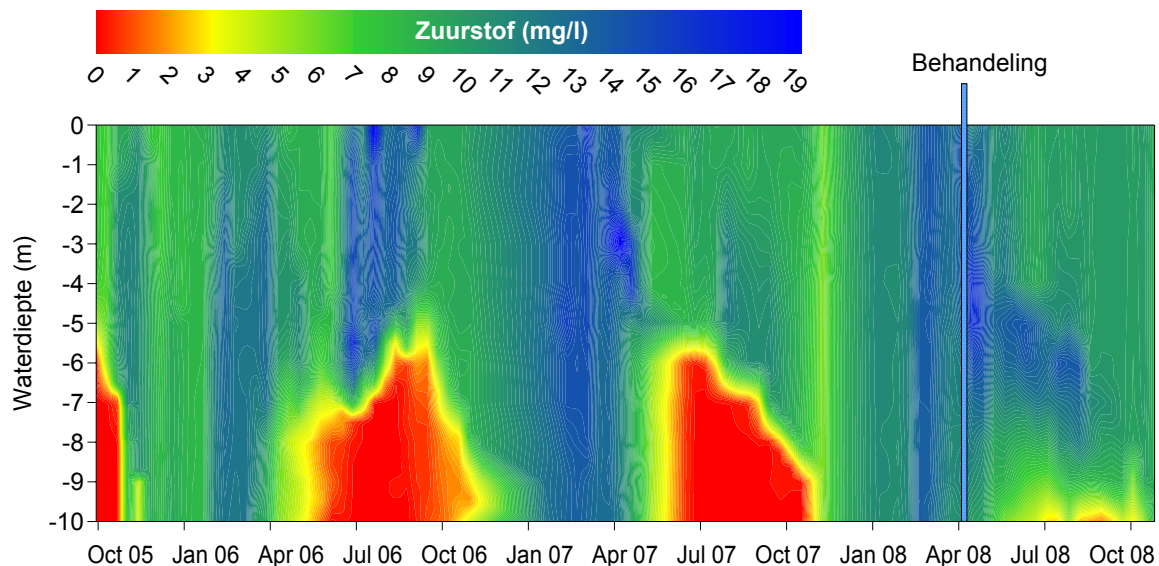


Figuur 12: Op 20 april daags voor de applicatie lag er een drijflaag op De Rauwbraken (A,B). Na behandeling met het vlokmiddel PAC39 was deze drijflaag verdwenen en werd het water helder (C: 13 mei, D: 26 augustus).

Zuurstof en zuurgraad in De Rauwbraken

De zuurstofconcentratie in De Rauwbraken is gemeten met een WTW Oxi 320 meter. De zuurgraad (pH) is gemeten met een WTW pH 320 meter.

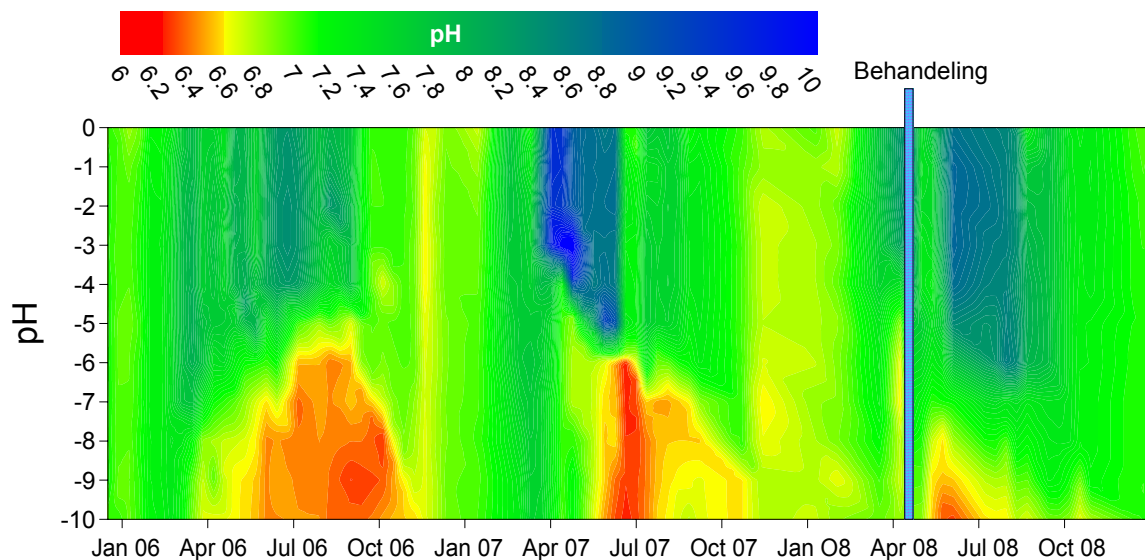
De zuurstofconcentratie in het water van de Rauwbraken laat een duidelijke seizoensdynamiek zien. In de winter en het vroege voorjaar is de waterkolom volledig gemengd. De zuurstofconcentratie is uniform over de waterkolom en ligt rond de 100% verzadiging. Tijdens de zomerstratificatie in de jaren voor de behandeling wordt het water in het hypolimnion anoxisch (*Figuur 13*). Dit wordt veroorzaakt door de bacteriële afbraak van epilimnion organisch materiaal in combinatie met nauwelijks tot geen primaire productie. Dit *clinograde* patroon is kenmerkend voor een productief (eutroof) systeem.



Figuur 13: Het verloop van de zuurstofconcentratie (mg l⁻¹) over de diepte in De Rauwbraken voor (oktober 2005 – april 2008) en na (april – december 2008) de Flock & Lock behandeling.

Na de behandeling in 2008 waren ook tijdens de zomerstratificatie de zuurstofconcentraties vergelijkbaar met die ten tijde van volledige menging van de waterkolom (*Figuur 13*). Een dergelijk *orthograde* patroon is kenmerkend voor onproductieve (oligotrofe) diepe systemen. Kortstondig daalde de zuurstofconcentratie in de zomer in de allerdiepste waterlagen tot 3-4 mg l⁻¹, maar anoxia bleef in 2008 uit (*Figuur 13*).

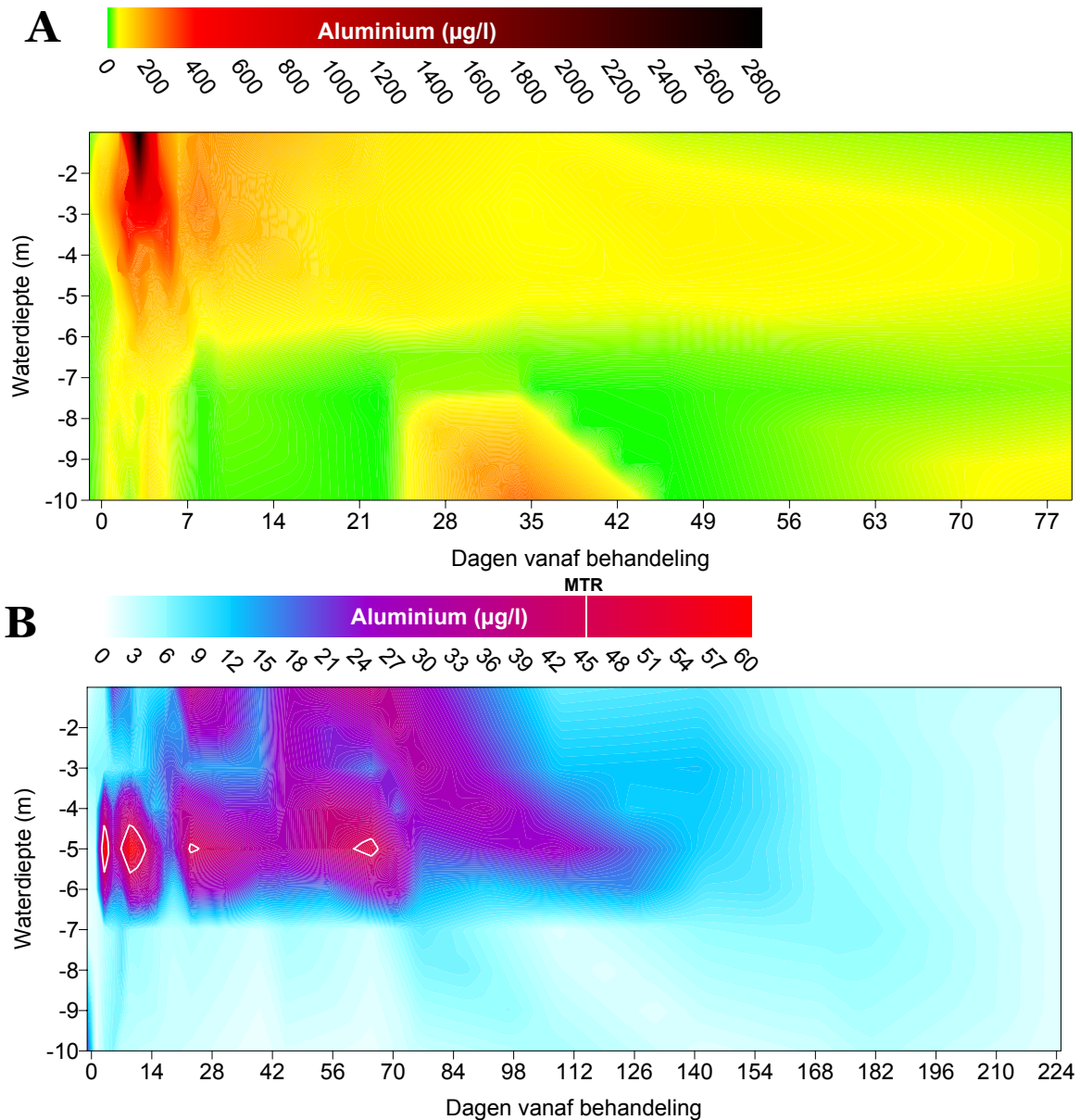
Tijdens complete menging is de pH van het water neutraal en homogeen over de waterkolom (*Figuur 14*). Voor de behandeling is er tijdens de stratificatie een duidelijk verschil tussen de hogere pH in het epilimnion en de lagere pH in het hypolimnion. Fotosynthese in het epilimnion zorgt voor een hogere pH, terwijl het bij de afbraak van organisch materiaal vrijkomende CO₂ in het hypolimnion een lagere pH veroorzaakt. Na de behandeling is dit verschil grotendeels verdwenen (*Figuur 14*).



Figuur 14: Het verloop van de zuurgraad (pH) over de diepte in De Rauwbraken voor (januari 2006 – april 2008) en na (april – december 2008) de Flock & Lock behandeling.

Aluminium

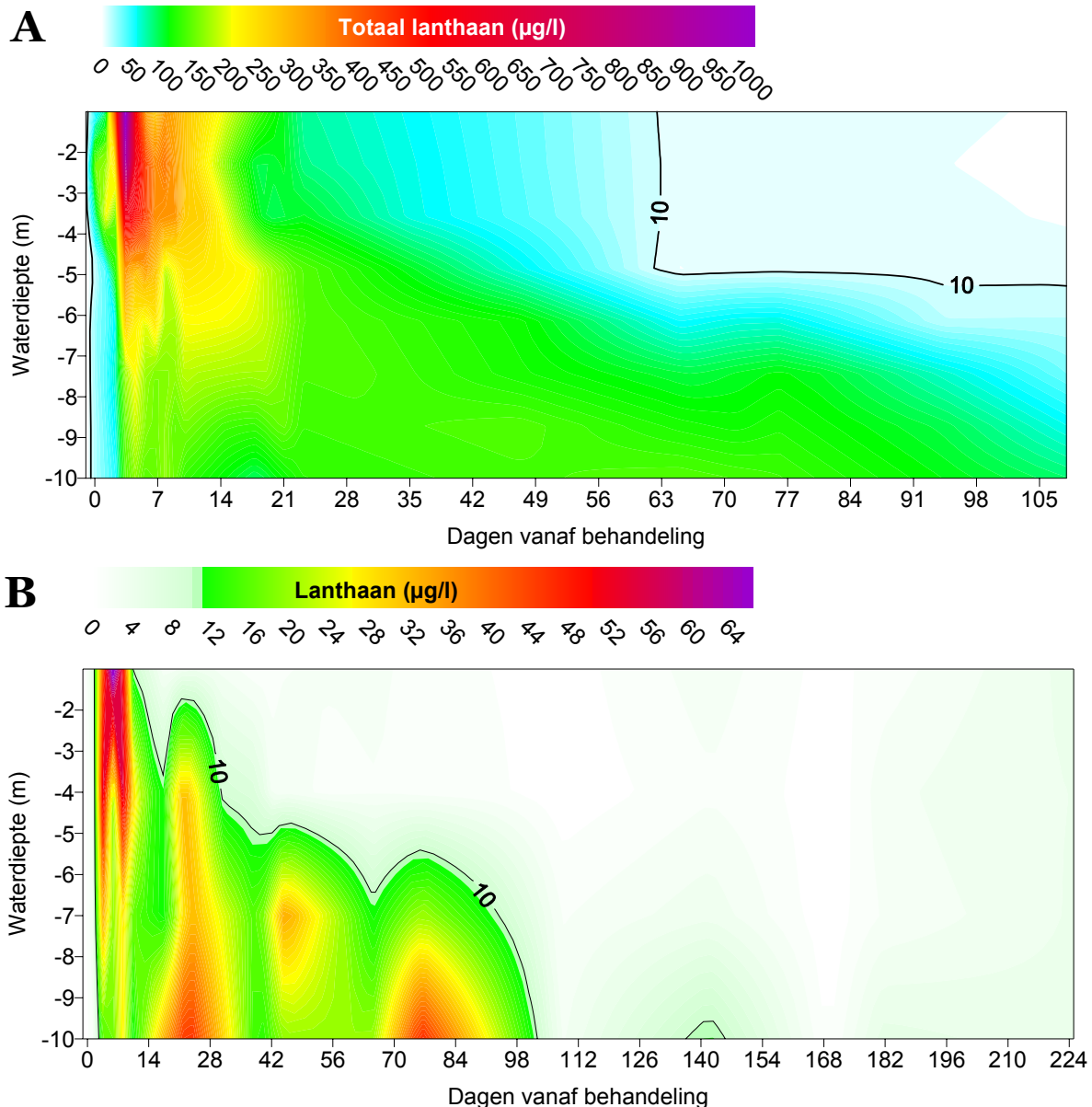
Zowel het particulaire- als opgeloste aluminium worden door de applicatie verhoogd (*Figuur 15*). In Nederland geldt een *ad-hoc* Maximaal Toelaatbaar Risiconiveau (MTR) voor aluminium in oppervlaktewater van $48 \mu\text{g l}^{-1}$ (Van de Plassche, 2002). Er vindt kort na de applicatie kortstondig een overschrijding van de MTR plaats (*Figuur 15B*), maar hier dient een kanttekening bij geplaatst te worden. De MTR is gebaseerd op opgelost aluminium, waarbij men doelt op aluminiumionen waarvan de vorming sterk pH afhankelijk is. Tussen een pH van 5.2 en 8.8 is aluminium voornamelijk aanwezig als het vaste $\text{Al}(\text{OH})_3$ (Martel & Motekaitis 1989; Driscoll and Letterman 1995). Deze aluminiumhydroxides kunnen echter wel een filter passeren.



Figuur 15: Het verloop van de totale- (A) en opgeloste aluminiumconcentraties (B, in $\mu\text{g l}^{-1}$) over de diepte in De Rauwbraken.

Lanthaan

Voor de behandeling was de concentratie filtreerbaar lanthaan over de waterkolom gemiddeld $14 (\pm 9) \text{ ng l}^{-1}$. Particulair lanthaan werd alleen in water van 10 m diepte gemeten (31 ng l^{-1}). Nederland kent een MTR¹ voor lanthaan van $10.1 \mu\text{g l}^{-1}$ (Sneller *et al.*, 2000). De behandeling van het water met Phoslock[®] verhoogde de lanthaanconcentraties aanzienlijk en leidde tot een overschrijding van de MTR (Figuur 16). Het duurde 1½ week voordat het filtreerbare lanthaan beneden de MTR kwam en voor het totale lanthaangehalte was dit twee maanden (Figuur 16).

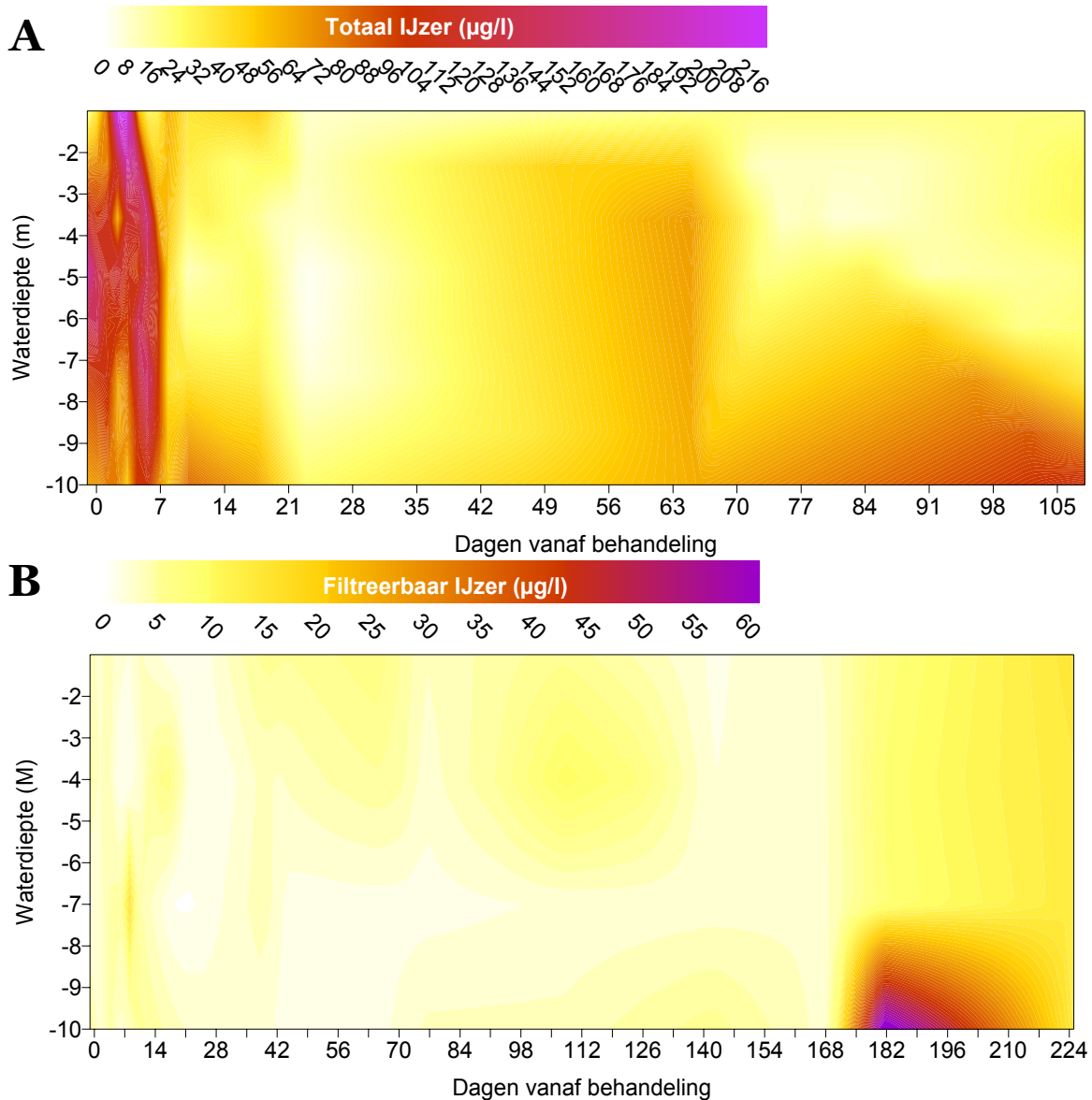


Figuur 16: Het verloop van de totale- (A) en filtreerbare lanthaanconcentraties (B, in $\mu\text{g l}^{-1}$) over de diepte in De Rauwbraken in 2008. De $10 \mu\text{g l}^{-1}$ isocline geeft de MTR van lanthaan aan.

¹ Zie Bijlage I voor ecotoxicologisch onderzoek naar lanthaan en Phoslock[®].

IJzer en zwavel

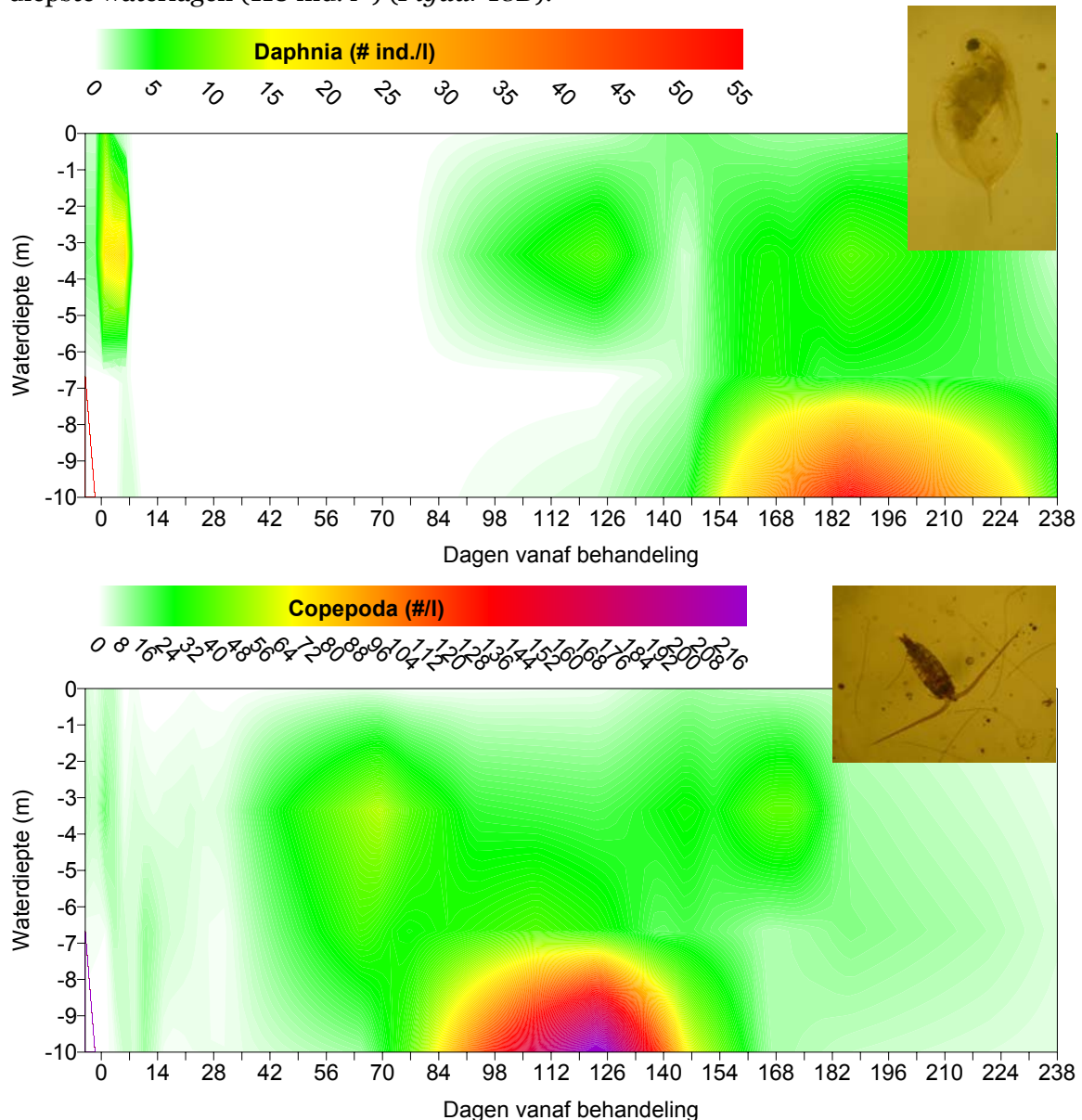
De totale ijzerconcentratie in het water werd door de applicatie verhoogd, maar nam snel weer af (*Figuur 17A*). Het opgeloste ijzer was met gemiddeld $3.3 \mu\text{g l}^{-1}$ gedurende vrijwel de ganse periode hetzelfde, maar na 181 dagen was er een duidelijke verhoging in de diepere waterlagen en werden de waardes (gemiddeld $16.7 \mu\text{g l}^{-1}$) significant hoger ($F_{19,99} = 2.42$; $p = 0.003$) dan in de maanden ervoor (*Figuur 17B*). Ook de totale- en opgeloste zwavelconcentraties waren gedurende deze periode gelijk met een gemiddelde van respectievelijk $8.3 (\pm 1.0) \text{ mg l}^{-1}$ en $7.7 (\pm 1.3) \text{ mg l}^{-1}$.



Figuur 17: Het verloop van de totale ijzerconcentratie (A, in $\mu\text{g l}^{-1}$) en filtreerbare ijzerconcentratie (B, in mg l^{-1}) over de diepte in De Rauwbraken in 2008.

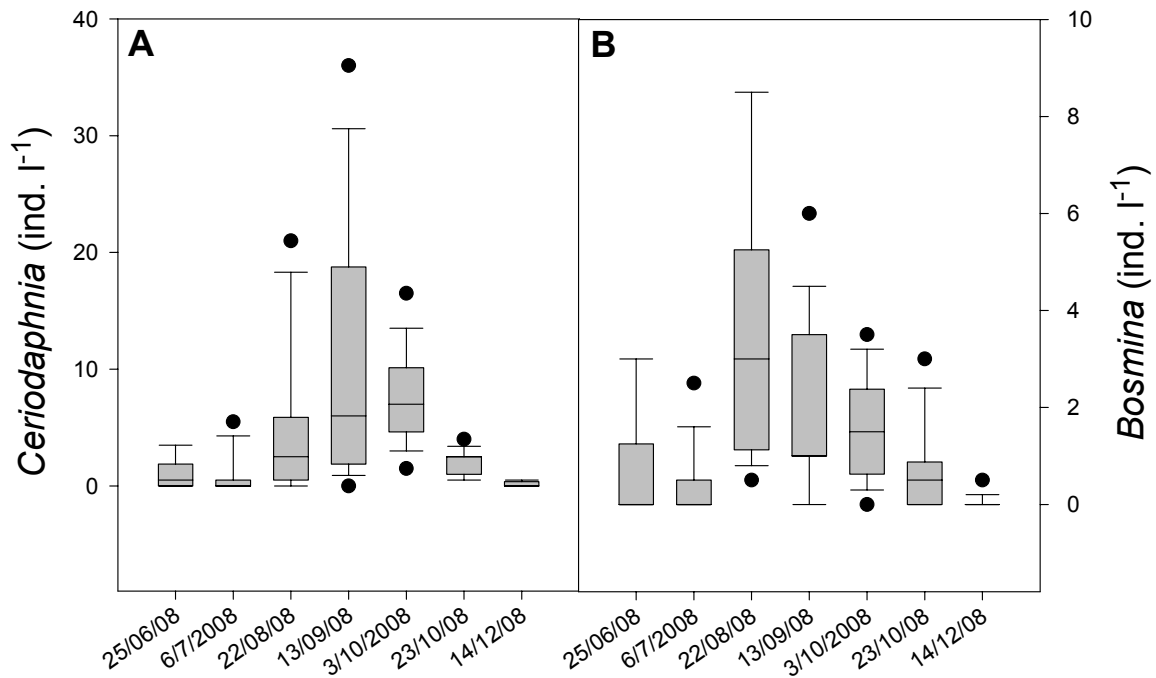
Zoöplankton

Er zijn duidelijke verschillen in de temporele en spatiele distributie van zoöplankton-groepen waargenomen (*Figuur 18*). Van enkele dagen voor de applicatie tot een week na de applicatie werd in de bovenste waterlagen *Daphnia galeata* aangetroffen (1 – 19 ind. l⁻¹). Hierna waren de *Daphnia* enige maanden verdwenen om in oktober, met name in de diepere waterlagen, terug te keren in aantallen tussen de 5 en 28 ind. l⁻¹ (*Figuur 18A*). Copepoda zijn de gehele periode aangetroffen met in augustus een duidelijke piek in de diepste waterlagen (118 ind. l⁻¹) (*Figuur 18B*).



Figuur 18: Het verloop van de aantallen *Daphnia* (A) en copepoda (B) per 2 liter over de diepte in De Rauwbraken in 2008.

Vanaf medio juni laten de kleinere watervlooien *Ceriodaphnia reticulata* en *Bosmina longirostris* een toename zien in abundantie gevolgd door een sterke afname in het najaar (Figuur 19). In het litoraal werden tussen de waterplanten aanzienlijke aantallen *Simocephalus vetulus* waargenomen.



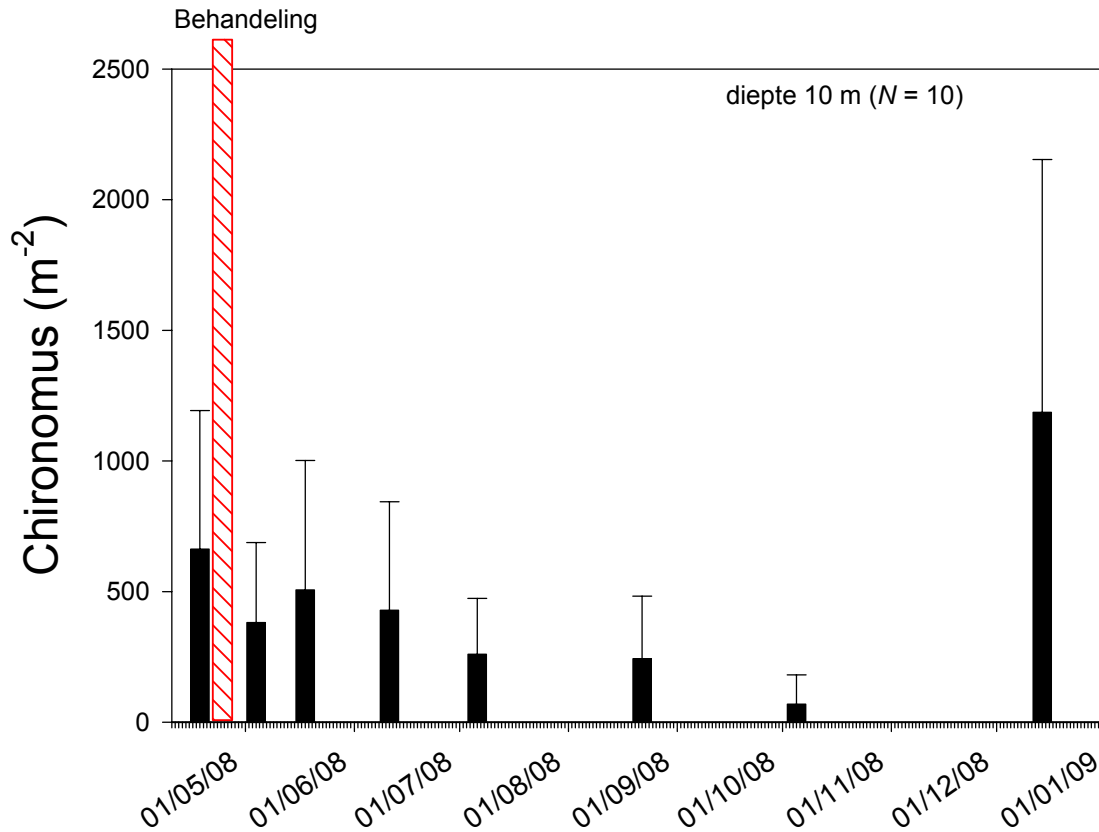
Figuur 19: Het verloop van de over de diepte gemiddeld aantallen *Ceriodaphnia* (A) en *Bosmina* (B) per liter in De Rauwbraken in 2008.



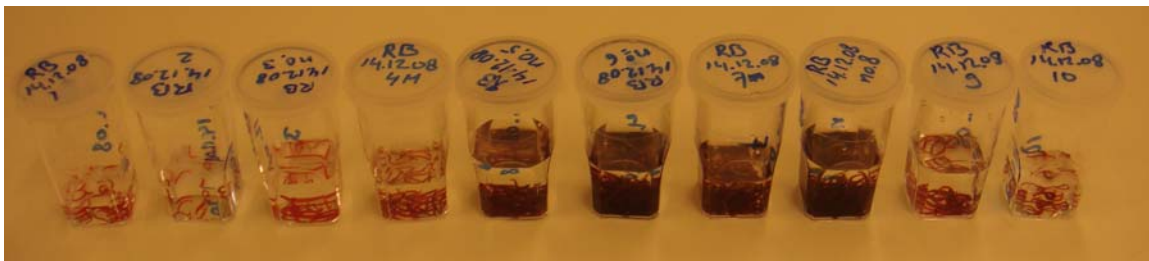
Figuur 20: *Simocephalus vetulus*

Muggenlarven

Zowel voor als na de applicatie werden op 10 m diepte muggenlarven aangetroffen. De aantallen varieerden tussen 70 en 1200 individuen per m² (Figuur 21). Er was een behoorlijke spreiding in de aantallen tussen de 10 monsterlocaties. Bijvoorbeeld op 14 december varieerde de aantallen tussen 200 en 3000 individuen per m² (Figuur 22).



Figuur 21: Het verloop van de aantallen muggenlarven op 10 m diepte in De Rauwbraken in 2008. De Error bars geven 1 standaard deviatie weer (n = 10).



Figuur 22: De aantallen muggenlarven in 10 verschillende monsters van 10 m diepte in De Rauwbraken genomen op 14 december 2008.

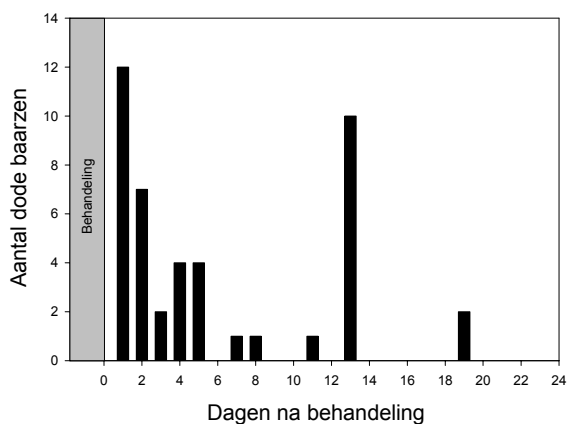
4 Observaties

De toevoeging van PAC39 zorgde voor een snelle precipitatie van materiaal (*Figuur 23A,B*). De vervolgens aan het heldere water toegevoegde Phoslock® kleurde De Rauwbraken blauw (*Figuur 23C,D*). Deze blauwe kleur bleef dagen aanwezig wat duidt op een langzame sedimentatie van de kleideeltjes uit de waterfase.



Figuur 23: Helder water en geprecipiteerd materiaal (A,B) en De Rauwbraken als een blauw “gletsjermee” (C,D) na toediening van Phoslock®.

Daags na de behandeling op 24 april werden 12 dode baarzen aangetroffen (*Figuur 24*). De dagen erna werden telkens een aantal dode baarzen gevonden van vrijwel dezelfde grootteklasse (12.0 ± 1.3 cm, $N = 35$). In totaal werden 44 dode baarzen gevonden, waarvan 7 baarzen kleiner dan 10 cm en 2 exemplaren van 30 cm (*Figuur 24*).

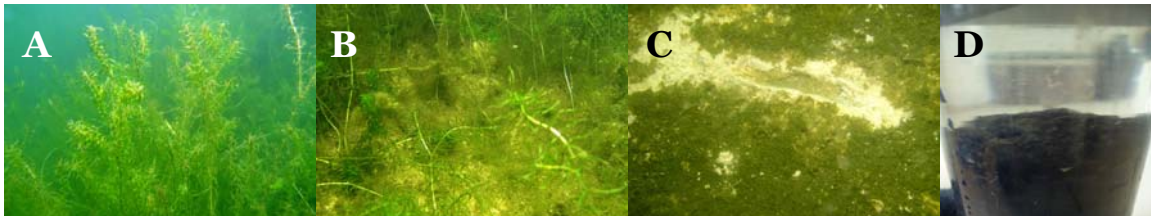


Figuur 24: Aantal dode baarzen per dag vanaf de behandeling (links) en een foto van de slachtoffers (rechts).

Omdat dode baarzen nooit eerder in De Rauwbraken waren gesignaleerd, zijn deze zeer waarschijnlijk overleden ten gevolge van de behandeling. Ook is er in de zomer geen o⁺-baars gevonden waar normaal tijdens onderwaterobservaties grote scholen werden gezien. Of het visbroed/kuit tijdens de behandeling is gestorven of erna wegens voedselgebrek en/of verhoogde predatiedruk door grote exemplaren, snoek en watervogels is niet duidelijk. De aantallen aangetroffen dode baars is weliswaar gering, en strookt niet met de op zicht lagere abundantie van de baars. Aangenomen wordt dat de sterfte hoger is dan op basis van de gevonden exemplaren wordt aangenomen. De mogelijke gevoeligheid van baars (o⁺, 1⁺) voor Phoslock® verdient nader onderzoek. Opmerkelijk was dat er in de vroege zomer grote scholen broed van de zeelt werd gezien,

evenals frequent volwassen exemplaren. Ook snoek en graskarper zijn gesignaleerd in De Rauwbraken. Er zijn in het buitenland ecotoxicologische tests uitgevoerd met Phoslock[®] en vissen. Voor broed van de regenboogforel leverde dit een LC₅₀ van 4350 mg Phoslock[®] l⁻¹ (Martin & Hickey, 2004). De oosterse regenboogvis (*Melanotaenia duboulayi*) bleek met een EC₅₀ van meer dan 100% filtraat van 50 g Phoslock[®] l⁻¹ nog ongevoeliger (NICNAS, 2001) en een test met viseieren en lanthaan leverde een EC₅₀ van 150 mg La³⁺ l⁻¹ (Instituut Dr Nowak, 2008). In dit laatste rapport wordt gemeld dat er in baars enkele maanden na de behandeling 2.3 mg La kg⁻¹ in lever en huid wordt gevonden. Helaas kon het instituut in de referentievissen concentraties beneden 5 mg La kg⁻¹ niet bepalen (Instituut Dr Nowak, 2008). Dode baarsen zijn bij de behandelingen in Duitsland niet aangetroffen en ook in De Gouden Ham is geen dode baars gevonden. Zelfs in dat wat als een “worst-case-scenario” kan worden gezien wat betreft toediening en kwaliteit van de klei, het Australische veldexperiment in Swan River, leverde alleen voor een benthisch visje, de blauwgekleurde riviergrondel *Pseudogobius alorum*, een significante reductie in abundantie op (NICNAS, 2001). In De Rauwbraken kan PAC een mogelijk effect hebben gehad op de baars. De nog steeds ruim aanwezige visfauna sluit een generiek acuut effect of vis uit. Ook de waargenomen reproductie van zeelt, de laboratoriumexperimenten en veldmetingen in het buitenland zijn bemoedigend.

Waterplanten kwamen massaal opzetten in het heldere water (*Figuur 25A,B*). Waterpest groeide in hoge dichtheid tot ruim 9 meter diepte. Echter tijdens onderwaterobservaties werd duidelijk dat een groot deel van de Phoslock[®] in het zuidelijke deel van de plas tussen de waterplanten ligt (*Figuur 25C*) en niet in de diepere delen van de plas waar het zou moeten liggen, zoals bleek uit sedimentcores (*Figuur 25D*). Desondanks werden de fosfaatconcentraties in het diepere deel minder hoog dan in de jaren ervoor. Dit kan deels veroorzaakt worden doordat er wel degelijk Phoslock[®] in het diepe deel is gekomen, maar ook doordat het water in de diepte niet anoxisch werd waardoor fosfaat aan ijzer gebonden kon blijven.



Figuur 25: Het heldere water stimuleerde groei van waterplanten (A, B), maar tussen de waterplanten in voornamelijk het zuidelijk deel van De Rauwbraken werd veel Phoslock[®] aangetroffen (C), terwijl dit beduidend minder bleek in sedimentcores uit de diepere delen (D).

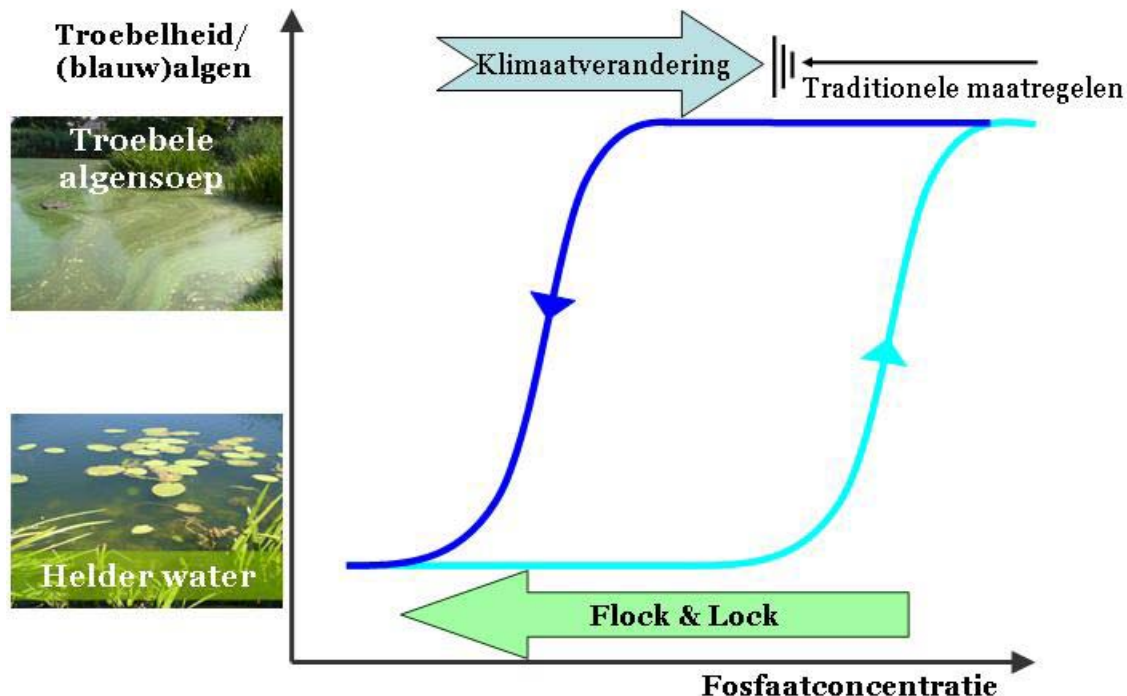
Tussen de waterplanten werd een rijke variëteit aan macrofauna aangetroffen: watermijten, wantsen, libellenlarven, kevers, keverlarven, muggenlarven, juffers, waterpissebedden, vlokreeftjes, platwormen, slakken, maar ook zoetwater kreeftjes, kikkervisjes en groene kikkers (*Figuur 26*).



Figuur 26: Groene kikkers, kreeftjes en macrofauna waren zeer ruim aanwezig.

5 Conclusie 2008

- De behandeling heeft in 2008 effectief blauwalgenbloei voorkomen.
- De fosfaat- en algenconcentraties werden sterk gereduceerd door de behandeling, de troebelheid nam sterk af, het water werd kraakhelder, waterplanten groeiden tot ruim 9 m diepte en de diepere waterlagen waren voor het eerst sinds tijden niet zuurstofloos. Er kan voor 2008 gesproken worden van een regime-shift (*Figuur 27*).
- De Phoslock® is niet voornamelijk in het diepe deel van de plas geaccumuleerd, om het sediment af te dekken, maar ligt vooral in het zuidelijk deel van de plas.
- Abundante vegetatie, macrofauna, zooplankton, amfibieën en vissen duiden op een vitaal systeem. Wel is er een behandelingsgerelateerde sterft van baars geconstateerd.
- De behandeling resulteerde in een kortstondige, risicoloze overschrijding van de aluminium- en lanthaannorm.
- Strandbad De Rauwbraken kon op 26 april haar deuren openen voor recreanten. Dit was zonder behandeling vanwege de al aanwezige blauwalgenbloei niet mogelijk geweest.
- De Flock & Lock behandeling kan voor 2008 als zeer succesvol worden gezien.



Figuur 27: Hoge fosfaatconcentraties resulteren in een groene algensoep, lage fosfaatconcentraties zijn bevorderlijk voor helder water met ondergedoken waterplanten. Daar waar traditionele maatregelen om tot sterke reductie van fosfaatconcentraties te geraken worden tegengewerkt door allerlei veranderingen, lijkt Flock & Lock De Rauwbraken naar een heldere toestand te hebben gebracht.

6 Referenties

- Akhurst, D., Jones, G.B. & McConchie, D.M. (2004). The application of sediment capping agents on phosphorus speciation and mobility in a sub-tropical dunal lake. *Mar. Freshw. Res.* **55**: 715-725.
- Auvray, F., van Hullebusch, E.D., Deluchat, V. & Baudu, M. (2006). Laboratory investigation of the phosphorus removal (SRP and TP) from eutrophic lake water treated with aluminium. *Water Research* **40**: 2713 – 2719.
- Barry, M.J. & Meehan, B.J. (2000). The acute and chronic toxicity of lanthanum to *Daphnia carinata*. *Chemosphere* **41**: 1669-1674.
- Carpenter, S.R. (2008). Phosphorus control is critical to mitigating eutrophication. *Proc. Natl. Acad. Sci USA* **105**: 11039-11040.
- Carpenter, S.R., Caraco, N.F., Correll, D.L., Howarth, R.W., Sharpley, A.N. & Smith, V.H. (1998). Nonpoint pollution of surface waters with phosphorus and nitrogen. *Ecol. Appl.* **8**: 559–568.
- Cleuvers, M. (2003). Aquatic ecotoxicity of pharmaceuticals including the assessment of combination effects. *Toxicol. Lett.* **142**: 185-194.
- Cooke, G.D., Welch, E.B., Martin, A.B., Fulmer, D.G., Hyde, J.B. & Schreive, G.D. (1993). Effectiveness of Al, Ca and Fe salts for control of internal P loading in shallow and deep lakes. *Hydrobiologia* **253**: 323–335.
- Correll, D.L. (1998). The role of phosphorus in the eutrophication of receiving waters: a review. *J. Environ. Qual.* **27**: 261–266.
- Drábková, M. (2007). Methods for control of the cyanobacterial blooms development in lakes. PhD-thesis Masaryk University, 91 pp.
- Driscoll, C.T. & Letterman, R.D. (1995). Factors regulating residual aluminium concentrations in treated waters. *Environmetrics* **3**: 287-309.
- Fogg, G.E. (1969). The physiology of an algal nuisance. *Proc. R. Soc. London B.* **173**: 175–189.
- Gulati, R.D. & Van Donk, E. (2002). Lakes in the Netherlands, their origin, eutrophication and restoration: state-of-the-art review. *Hydrobiologia* **478**: 73–106.
- Institut Dr. Nowak (2008). Measures for Lake Restoration at the Bärensee, City of Bruchköbel - Application Report and Results. Institut Dr. Nowak, 7 pp. & Report on the Application of Bentophos on the Silbersee. Institut Dr. Nowak, 7 pp.
- Johannesson, K.H. & Lyons, W.B. (1994). The rare earth element geochemistry of mono lake water and the importance of carbonate complexing. *Limnol. Oceanogr.* **39**: 1141–1154.

- Lewandowski, J., Schauser, I. & Hupfer, M. (2003). Long term effects of phosphorus precipitations with alum in hypereutrophic Lake Süsser See (Germany). *Water Research* **37**: 3194–3204.
- Liu, X. & Byrne, R.H. (1997). Rare earth and yttrium phosphate solubilities in aqueous solution. *Geochim Cosmochim Acta* **61**:1625–1633.
- Lurling, M. & Beekman, W. (1999). Grazer-induced defenses in *Scenedesmus* (Chlorococcales; Chlorophyceae): coenobium and spine formation. *Phycologia* **38**: 368-376 .
- Martel, A.E. & Motekaitis, R.J. (1989). Coordination chemistry and speciation of Al(III) in aqueous solution. In: Lewis, T.E. (ed.) *Environmental chemistry and toxicology of aluminum*. Lewis Publishers, Chelsea, MI, pp 3-17.
- Martin, M.L. & Hickey, C.W. (2004). Determination of HSNO ecotoxic thresholds for granular Phoslock™ (Eureka 1 formulation) Phase 1: Acute toxicity. NIWA Project PXL 05201, NIWA New Zealand.
- McLaughlin, J.R., Ryden, J.C. & Syers, J.K. (1981). Sorption of inorganic phosphate by iron and aluminum components. *J. Soil Sci.* **32**: 365–377.
- Mehner, T., Diekmann, M., Gonsiorczyk, T., Kasprzak, P., Koschel, R., Krienitz, L., Rumpf, M., Schulz, M. & Wauer, G. (2008). Rapid recovery from eutrophication of a stratified lake by disruption of internal nutrient load. *Ecosystems* **11**: 1142–1156.
- NICNAS (2001). National Industrial Chemicals Notification and Assessment Scheme, Full public report - Lanthanum modified clay. File No: NA/899, 28 pp.
- Paerl, H.W. (1988). Nuisance phytoplankton blooms in coastal, estuarine, and inland waters. *Limnol. Oceanogr.* **33**: 823–847.
- Paerl, H.W. (2008). Chapter 10: Nutrient and other environmental controls of harmful cyanobacterial blooms along the freshwater–marine continuum In: Hudnell, K.E. (Ed.) *Cyanobacterial Harmful Algal Blooms: State of the Science and Research Needs. Adv. Exp. Med. Biol.* **619**: 217-237.
- Paerl, H.W. & Huisman, J. (2008). Blooms like it hot. *Science* **320**: 57-58.
- Reynolds, C.S. (1987). Cyanobacterial water blooms. *Adv. Bot. Res.* **13**: 67–143.
- Reynolds, C.S. & Walsby, A.E. (1975). Water blooms. *Biol. Rev.* **50**: 437–481.
- Robb, M., Greenop, B., Goss, Z., Douglas, G. & Adeney, J. (2003). Application of Phoslock™, an innovative phosphorus binding clay, to two Western Australian waterways: preliminary findings. *Hydrobiologia* **494**: 237–243.
- Roijsackers, R.M.M. & Lurling, M. (2007). Climate Change and Bathing Water Quality. Rapport, Wageningen UR, 37 pp.
- Ross, G., Haghseresh, F. & Cloete, T.E. (2008). The effect of pH and anoxia on the performance of Phoslock™, a phosphorus binding clay. *Harmful Algae* **7**: 545–550.
- Rydin, E. & Welch, E.B. (1998). Aluminum dose required to inactivate phosphate in lake

- sediments. *Wat. Res.* **32**: 2969-2976.
- Rydin, E. & Welch, E.B. (1999). Dosing alum to Wisconsin Lake sediments based on possible formation of aluminum bound phosphate. *Lake and Reservoir Management* **15**: 324-331.
- Schindler, D.W. (1974). Eutrophication and recovery in experimental lakes: Implications for lake management. *Science* **184**: 897-899.
- Schindler, D.W. (1975). Whole-lake fertilization experiments with phosphorus, nitrogen, and carbon. *Int. Ver. Theor. Angew. Limnol. Verh.* **19**: 3221-3231.
- Schindler, D.W. (1977). Evolution of phosphorus in lakes. *Science* **195**: 260-262.
- Schindler, D.W., Hecky, R.E., Findlay, D.L., Stainton, M.P., Parker, B.R., Paterson M.J., Beaty, K.G., Lyng, M. & Kasian, S.E.M. (2008). Eutrophication of lakes cannot be controlled by reducing nitrogen input: Results of a 37-year whole-ecosystem experiment. *Proc. Natl. Acad. Sci.* **105**: 11254-11258.
- Søndergaard, M., Jensen, A. & Jeppesen, E. (2003). Role of sediment and internal loading of phosphorus in shallow lakes. *Hydrobiologia* **506/509**:135-45.
- Sneller, F.E.C., Kalf, D.F., Weltje L. & Van Wezel, A.P. (2000). Maximum permissible concentrations and negligible concentrations for rare earth elements (REEs). RIVM report 601501011.
- Tollrian, R. (1993). Neckteeth formation in *Daphnia pulex* as an example of continuous phenotypic plasticity: Morphological effects of *Chaoborus* kairomone concentration and their quantification. *J. Plankton Res.* **15**: 1309-1318.
- Van Oosterhout, J.F.X. (2007). Rauwbraken, Blauwalgen, Herstel. Rapport M340, december 2007, Stichting Nederlandse Onderwaterparken en Leerstoelgroep Aquatische Ecologie & Waterkwaliteitsbeheer, Wageningen Universiteit.
- Van Oosterhout, J.F.X. & Lurling, M. (2007). De Rauwbraken, Strandbad en Onderwaterpark. Voorkomen van blauwalgenbloei door vastleggen van fosfaat. Rapport Stichting Nederlandse Onderwaterparken en AEW-WUR, december 2007.
- Van de Plassche, E.J. (2002). Een ad-hoc Maximaal Toelaatbaar Risiconiveau (MTR) voor aluminium in oppervlaktewater. Report: 4L1574.A1/ROO01/EVDP/Nijm, 7 pp.
- Welch, E.D. & Cooke, G.D. (1995). Internal phosphorus loading in shallow lakes: importance and control. *Lakes and Reservoir Management* **11**: 273-281
- Welch, B.E. & Cooke, G.D. (1999). Effectiveness and longevity of phosphorus inactivation with alum. *Lake and Reservoir Management* **15**: 5-27.

Bijlage 1

Lanthaan, Phoslock® en *Daphnia*

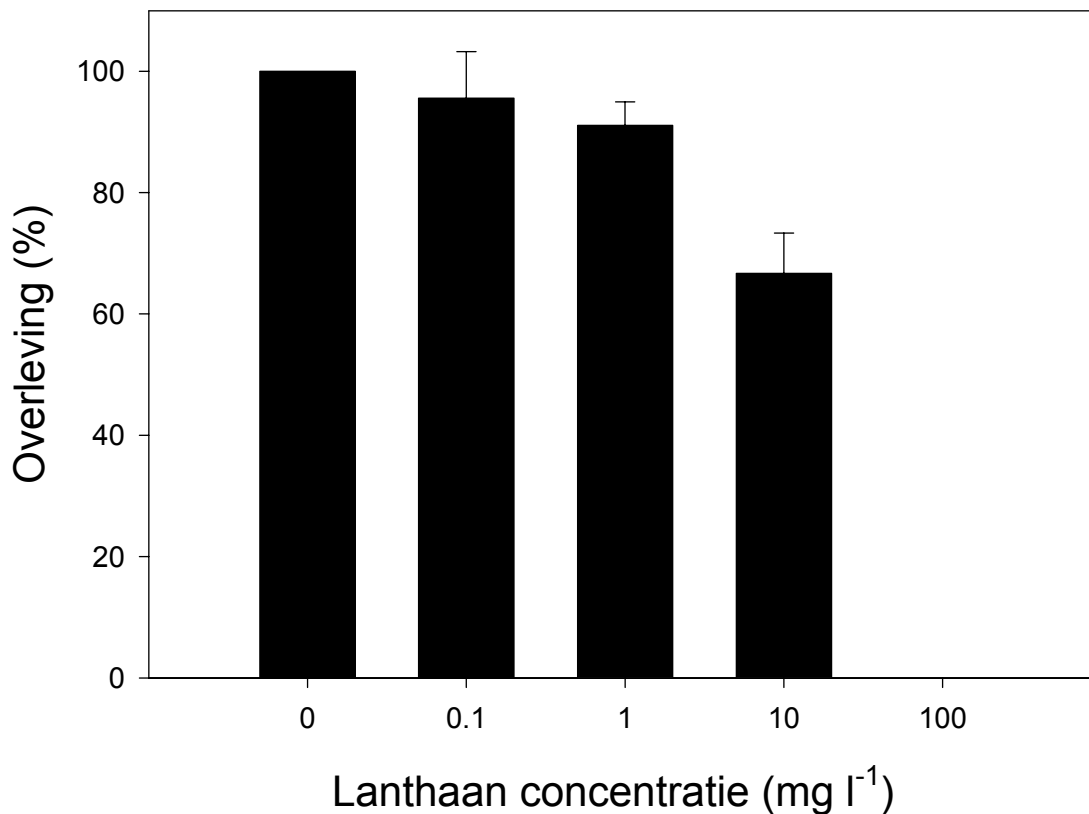
De in Nederland geldende lanthaannorm is afgeleid van de NOEC verkregen uit een 21 dagen *Daphnia* reproductietest (Sneller *et al.*, 2000). De NOEC bedroeg $100 \mu\text{g La l}^{-1}$, de veiligheidsfactor $10\times$ en tezamen met een achtergrondconcentratie van $0.1 \mu\text{g La l}^{-1}$, resulteerde dit in een MTR van $10.1 \mu\text{g La l}^{-1}$ (Sneller *et al.*, 2000). Omdat de weinige gepubliceerde studies (Barry & Meehan, 2000; Sneller *et al.*, 2000; NICNAS, 2001; Martin & Hickey, 2004) geen duidelijk beeld geven over de mogelijke effecten van lanthaan op watervlooien, zijn uitvoerige experimenten uitgevoerd in het planktonlaboratorium van AEW.

1) Effect van lanthaan op overleving van *Daphnia magna*

Er is een standaard acute toxiciteitstest uitgevoerd met de watervlo *Daphnia magna*. Deze watervlo wordt al meer dan 10 jaar in het AEW laboratorium gekweekt bij 20°C in 1 liter potten met 800 ml artificiële fosfaatvrije RT-medium (pH van 7.6, geleidbaarheid van $270 \mu\text{S cm}^{-1}$ en een totale hardheid van $88 \text{ mg CaCO}_3 \text{ l}^{-1}$; Tollrian, 1993). De beesten in de kweek worden drie maal per week gevoerd met de groenalg *Scenedesmus obliquus* (Turpin) Kützing ($\sim 4 \text{ mg C l}^{-1}$). *S. obliquus* SAG 276/3a is verkregen uit de cultuurcollectie van de Universiteit van Göttingen (Duitsland). *S. obliquus* wordt gekweekt in 1.0-l chemostaten in continu licht van $120\text{-}\mu\text{mol quanta m}^{-2}\text{s}^{-1}$ at 20°C in een lichtgemodificeerde WC medium (Lurling & Beekman, 1999) bij een doorstroomsnelheid van 1.1 d^{-1} .

In de acute 48-uur toxiciteitstest werden 15 beesten in potten met 200 ml medium gebracht en in 3-voud blootgesteld aan 0, 0.1, 1, 10 en 100 mg La l^{-1} . De potten bevatten geen algenvoedsel. Lanthaan (La) werd ingewogen als $\text{La}(\text{NO}_3)_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$. Na 48 uur werden de aantallen niet bewegende en dode beesten geteld; de LC_{50} werd bepaald met behulp van non-lineaire regressie door fitting van een 3 parameter sigmoidale functie in de toolpack SigmaPlot 2000, version 6.00 (Clevers, 2003).

Na 48 uur bleken alle beesten in de controlepotten nog te leven, waren er 2 beesten doodgegaan in de laagste concentratie La, 4 in de 1 mg La l^{-1} behandelingen, 15 in de 10 mg La l^{-1} behandelingen en bleken alle beesten dood in de hoogste La dosering (Figuur B1). De berekende LC_{50} waarde is $14.1 \text{ mg La l}^{-1}$.



Figuur B1: Overleving (%) van *Daphnia magna* na 48 uur blootstelling aan verschillende concentraties Lanthaan (ingewogen als $\text{La}(\text{NO}_3)_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$). Error bars geven 1 standaard deviatie weer ($N = 3$).

2) Wat komt er uit de Phoslock® lekken?

Twee batches (25 kg elk) zijn verkregen van Phoslock® Water Solutions Ltd. (Australië). Gemiddeld werd van iedere batch 0.5 g Phoslock® in Erlenmeyers gebracht met 100 ml nanopure water. Elke batch werd in 3-voud getest (0.5033 ± 0.004 g voor batch 1 en 0.5022 ± 0.002 g voor batch 2). Drie extra Erlenmeyers bevatte alleen 100 ml nanopure water. De Erlenmeyers werden afgesloten met Parafilm en gedurende 48 uur in een incubator in het donker geplaatst bij 22 °C en continue orbitaal schudden (200 rpm). Hierna werd het materiaal gecentrifugeerd voor 5 min bij 3000 rpm, gevolgd door filtratie over een 0.45 µm membraanfilter. Filtraten werden geanalyseerd op metalen (Al, Cd, Cu, Hg, La, Pb, Zn) met behulp van AAS (Hg) en ICP-MS (andere metalen).

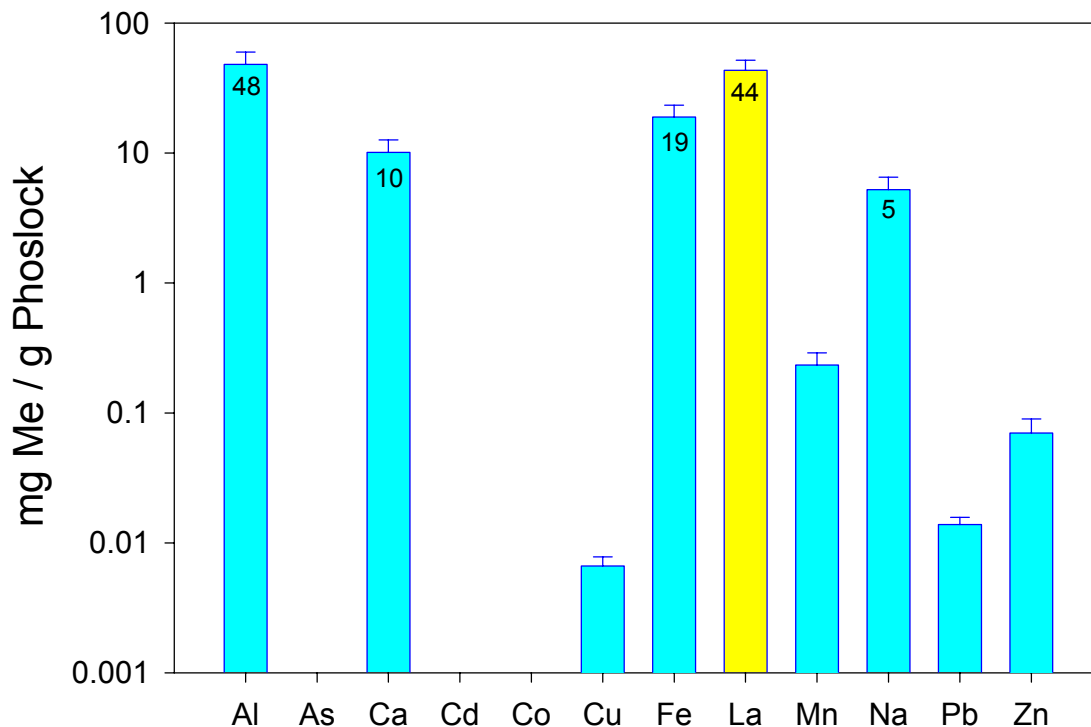
Tabel B1. Metalen (in µg l⁻¹, ±1 SD, $N = 3$) bepaald in 0.45 µm filtraten van 5 g l⁻¹ suspensies van twee verschillende batches Phoslock®.

	Al	Cd	Cu	Hg	La	Pb	Zn
Control	0.7 (1.3)	0	0.17 (0.09)	< 1	0	0	9.9 (2.1)
Batch 1	218.1 (145.5)	0	0.31 (0.09)	< 1	22.9 (17.5)	0.02 (0.02)	30.3 (18.0)
Batch 2	16.2 (2.6)	0	0.21 (0.10)	< 1	3.4 (0.8)	0 (0.01)	26.2 (15.0)

Aluminium, lanthaan, zink, een spoortje koper werden aangetroffen in het filtraat van de Phoslock® suspensies (Tabel B1). Kwik en cadmium werden niet aangetroffen en in 1 batch werd een minieme hoeveelheid lood gedetecteerd (Tabel B1). De oudste batch 1 (augustus 2006) leek meer metalen te lekken dan de jongere batch 2 (april 2008). Bijvoorbeeld in batch 1 kwam 69 – 360 µg Al l⁻¹ vrij, terwijl dit in batch 2 slechts 15 – 19 µg l⁻¹ was. Een vergelijkbaar patroon werd gevonden voor La: 12 – 43 µg l⁻¹ werd gemeten in filtraat van suspensies van de eerste batch, terwijl dit met 2.5 – 4.1 µg La l⁻¹ aanzienlijk lager was voor batch 2 (Tabel B1).

3) Wat zit er in de Phoslock®?

Er is ook gekeken wat er in de Phoslock® aan metalen aanwezig is. Na destructie van het materiaal van batch 1 (in 3-voud) kwam naar voren dat de klei ongeveer 4.4 % Lanthaan bevat. Dit komt overeen met de 5% die door de leverancier wordt opgegeven. Arseen, cadmium, cobalt en kwik zijn niet aangetroffen, lood en koper in minieme hoeveelheden (Figuur B2).



Figuur B2: Metalenanalyse van Phoslock®

4) Effect van Phoslock® op zoöplankton: I. de rotifeer *Brachionus calyciflorus*

Er is een 48 uur durende populatie-groeioproef uitgevoerd met de rotifeer *Brachionus calyciflorus*. De rotiferen zijn ontluikt uit cysten en blootgesteld aan een voedselsuspensie met verschillende concentraties Phoslock®. De proef is uitgevoerd in cultuurplaten die bestaan uit 24 testvaatjes van 3 ml. Elk testvaatje bevatte 2.5 ml voedselsuspensie van de groenalg *Scenedesmus obliquus* (2×10^7 µm³/ml ~ 10 mgC/l) in WC-medium met verschillende concentraties Phoslock®. Eén plaat bevatte de volgende

concentraties Phoslock®: 0, 0.005, 0.05, 0.01, 0.5 en 5.0 g/l (4-voud). Een tweede plaat de concentraties Phoslock®: 0, 0.005, 0.05, 0.01, 0.2 en 0.4 g/l (4-voud). De concentraties 0, 0.005, 0.05 en 0.1 g/l zijn dus in $2 \times 4 = 8$ -voud gemeten, de overige in 4-voud.

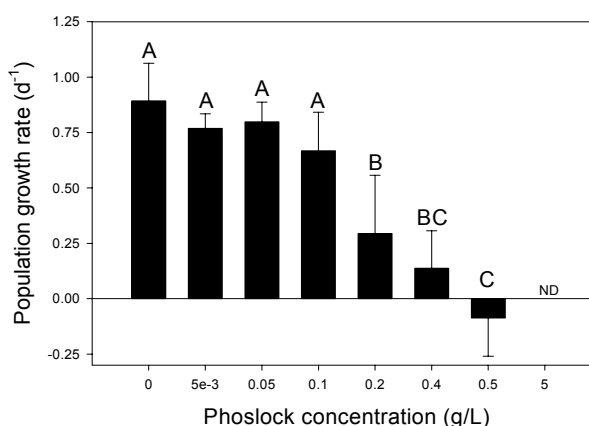
Pasgeboren rotiferen (< 2 uur oud) zijn met behulp van een pipet onder een binoculair (15×) overgezet in de testvaatjes. In ieder vaatje zijn twee rotiferen geplaatst. De platen zijn vervolgens in het donker op een schudplateau (40 rpm) geïncubeerd bij 21°C. Na 48 uur is het experiment gestopt door aan elk vaatje 100 µl Lugol toe te voegen. Vervolgens is het aantal rotiferen geteld.

De populatiegroeisnelheid is berekend met: $r = (\ln(t_2) - \ln(t_0))/\Delta t$.

Populatiegroeisnelheden zijn statistisch getoetst met behulp van een one-way ANOVA in het programma SPSS®, waarbij homogeniteit in variantie is getest met een Levene's test. Significante verschillen tussen populatiegroeisnelheden zijn bepaald met behulp van een Tukey post-hoc comparison test. De EC₅₀ waarde is bepaald door middel van non-lineaire regressie (4 parameter logistisch model) in het programma SigmaPlot 2000 versie 6.00.

De one-way ANOVA toonde aan dat er een significant verschil in populatiegroei was ($F_{6,37} = 30.6$; $P < 0.001$). Tukey's test onthulde dat Phoslock®-concentraties van 0.2 g/l en hoger een significante remming van de populatiegroei van de rotiferen veroorzaakten (Figuur B3). Bij 0.5 g/l trad enige sterfte op, terwijl 5.0 g/l vanwege de hoge concentratie Phoslock® niet te meten was en bij inspectie geen levende, zwemmende rotiferen liet zien.

De EC₅₀ concentratie (50% groei-inhibitie) was 0.19 (± 0.07) g/l (4-parameter logistische regressie, $r^2_{adj} = 0.943$).



Figuur B3: Populatiegroeisnelheid van *B. calyciflorus* blootgesteld aan Phoslock®. Symbolen A,B,C geven homogene groepen aan, die statistisch niet van elkaar verschillen (Tukey's test; $P < 0.05$). ND = niet te meten.

5) Effect van Phoslock® op zoöplankton: II. de watervlo *Daphnia magna*

Er is een 5 dagen durende juveniele groeiproef met *Daphnia magna* uitgevoerd. De juvenielen waren bij start van het experiment minder dan 24 uur oud. Het experiment werd uitgevoerd in glazen potten met 100 ml RT-medium. Phoslock® werd getest in de volgende concentraties: 0, 5, 50, 100, 500 en 5000 mg l⁻¹. Elke behandeling werd in 3-voud getest waarbij in elke beker drie beesten waren geplaatst. Elke beker ontving bij aanvang *Scenedesmus* (concentratie van 10 mm³ l⁻¹, wat equivalent is aan ~5 mg C l⁻¹) als voedsel voor de beesten. De potten werden in het donker geïncubeerd in een temperatuur-gecontroleerde kamer bij 20°C. Bij aanvang van het experiment werd van 15 juvenielen de lichaamslengte gemeten met behulp van een stereobinoculair microscoop. Vervolgens werden vijf groepen van drie individuen in kleine voorgewogen aluminiumbootjes gebracht, gedroogd gedurende 24 uur bij 105°C, en gewogen op een

elektronische balans (Sartorius MC5; $\pm 1 \mu\text{g}$). Na 5 dagen incubatie werden experimentele dieren gevangen, gewassen in RT-medium, gemeten en gedroogd waarna hun gewicht werd bepaald. De juveniele groeisnelheid (g) werd bepaald aan de hand van de toename in het gewicht (W) en de lichaamslengte (BL) vanaf de start (X_0) tot dag 5 (X_t) met behulp van: $g = (\ln X_t - \ln X_0)/t$

Beide endpoints werden statistisch vergeleken met een one-way ANOVA in de tool-pack SPSS Release 16.0.1, gevolgd door een Tukey's post-hoc comparison test ($P < 0.05$). EC_{50} waarden (i.e. Phoslock[®] concentratie, die een 50% groeiremming veroorzaakt) werden bepaald met behulp van non-linear regression (3 parameter sigmoidale functie in SigmaPlot 2000, version 6.00; Clevers 2003).

Bij aanvang van het experiment waren de juveniele *D. magna* $0.91 (\pm 0.05)$ mm lang en hadden ze een gewicht van $12.3 (\pm 1.1) \mu\text{g}$ ($N = 15$). Alle beesten overleefden in controles en behandelingen tot en met $100 \text{ mg Phoslock}^{\text{®}} \text{ l}^{-1}$; in $500 \text{ mg Phoslock}^{\text{®}} \text{ l}^{-1}$ bleef 89% te overleven, terwijl in de hoogste dosering ($5000 \text{ mg Phoslock}^{\text{®}} \text{ l}^{-1}$) alle beesten waren gestorven.

Na 5 dagen waren beesten in de controles $2.59 (\pm 0.25)$ mm, in $500 \text{ mg Phoslock}^{\text{®}} \text{ l}^{-1}$ waren ze iets kleiner (2.28 ± 0.17) mm, maar in de hoogste dosering waren ze helemaal niet gegroeid en waren ze $0.91 (\pm 0.13)$ mm (Figuur B4). De lengtegebaseerde groeisnelheden waren hetzelfde in controles en doseringen tot en met 500 mg l^{-1} , maar waren significant lager ($F_{5,12} = 128.7$; $P < 0.001$) in de $5000 \text{ mg Phoslock}^{\text{®}} \text{ l}^{-1}$ behandeling (Figuur B4).

De beesten behaalden een lichaamsgewicht van $144 (\pm 12) \mu\text{g}$ in controles; ze waren lichter in $100 \text{ mg Phoslock}^{\text{®}} \text{ l}^{-1}$ ($126 \pm 4 \mu\text{g}$), significant lichter ($F_{5,12} = 189.4$; $P < 0.001$) in de $500 \text{ mg Phoslock}^{\text{®}} \text{ l}^{-1}$ behandeling ($87 \pm 8 \mu\text{g}$) en met een gewicht van $5 \pm 2 \mu\text{g}$ waren ze zelfs afgefallen in $5000 \text{ mg Phoslock}^{\text{®}} \text{ l}^{-1}$ (Figuur B4). De EC_{50} waarden waren 871 en $1557 \text{ mg Phoslock}^{\text{®}} \text{ l}^{-1}$ voor respectievelijk gewicht- en lengtegebaseerde groeisnelheden.

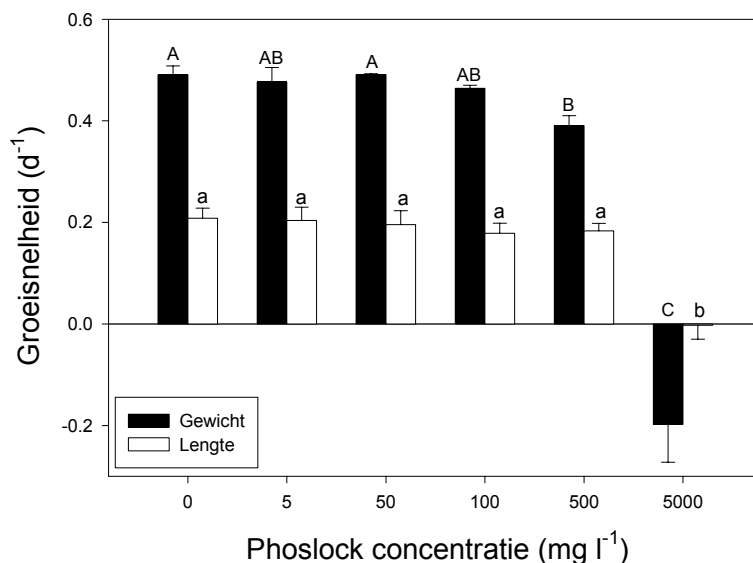


Figure B4. Juveniele groei van *Daphnia magna*, gebaseerd op de toename in gewicht (zwarte staven) en op de toename in lengte (witte staven), na 5 dagen blootstelling aan verschillende concentraties Phoslock[®] (0 – 5000 mg l⁻¹). Error bars geven 1 standard deviatie aan (N = 3).

6) Effect van lanthaan op life-history karakteristieken van *Daphnia magna*

Nieuwgeboren *Daphnia* (<24 uur) uit derde broedsels werden in een pot met RT-medium gebracht. *Ad random* werden hier individuen uit gepikt en individueel in 125-ml testbuizen geplaatst. De buizen bevatten een 100 ml *Scenedesmus* suspensie in RT-medium met verschillende concentraties lanthaan. De voedselconcentratie was $5 \text{ mm}^3 \text{ l}^{-1}$ (equivalent aan $\sim 2.5 \text{ mg C l}^{-1}$). Lanthaan werd getest in de volgende nominale concentraties 0, 33, 100, 330 en $1000 \text{ } \mu\text{g l}^{-1}$, zowel in standaard RT-medium zonder fosfaat als in RT-medium met $330 \text{ } \mu\text{g fosfaat l}^{-1}$. Lanthaan werd gedosserd uit stockoplossingen van $\text{La}(\text{NO}_3)_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ in nanopuur water van 3.3 mg La l^{-1} , 10 mg La l^{-1} , 33 mg La l^{-1} en 100 mg La l^{-1} . La concentraties in deze stock werden gemeten door middel van inductively coupled plasma mass spectrophotometry (ICP-MS).

Testbuizen werden geïncubeerd bij 20°C . De beesten werden dagelijks overgezet in schone buizen met een verse voedselsuspensie en lanthaan. Tijdens het overzetten werden de beesten gemeten. Overleving, tijdstip van eerste reproductie en aantallen nakomelingen werden geregistreerd. Groei en reproductie werd gevolgd totdat beesten hun vierde adulte instar hadden bereikt en het derde broedsel hadden geproduceerd. De intrinsieke populatiegroeisnelheid (r) werd afgeleid uit de verkregen gegevens met

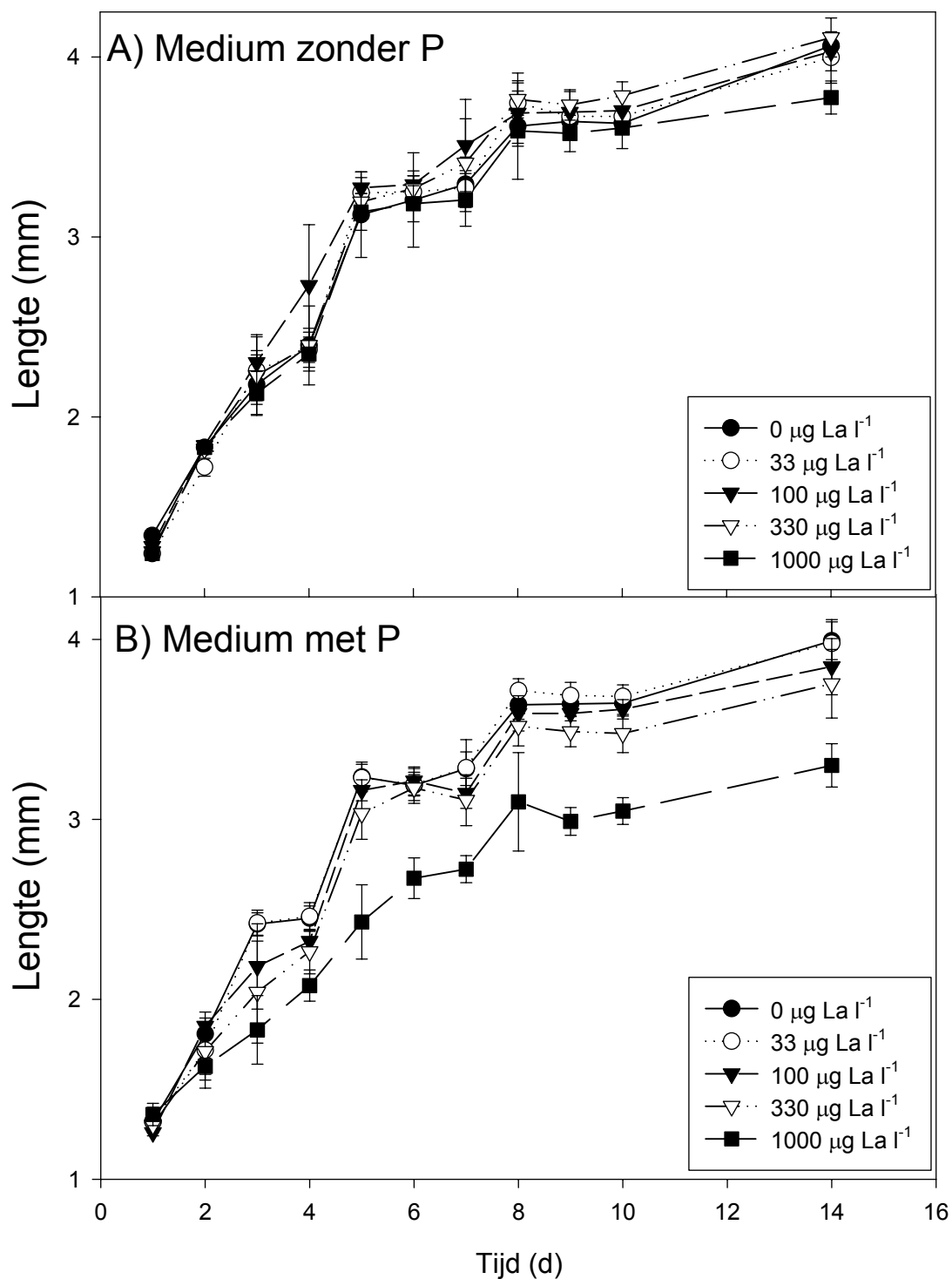
behulp van de volgende vergelijking: $r \cong \frac{\ln \sum_{x=0}^{\infty} l_x m_x}{T}$, waarin r = populatiegroeisnelheid (d^{-1}), x = leeftijdsklasse (0...N), l_x = kans op overleven to leeftijd x , m_x = fecunditeit op leeftijd x , and T de generatietijd.

De toename van de lichaamsgrootte over de tijd is geanalyseerd met behulp van een repeated measure ANOVA. Wanneer de ANOVA significantie aanduidde werd een Tukey post-hoc test uitgevoerd om de significante verschillen te achterhalen. De karakteristieken, zoals leeftijd en grootte ten tijde van de eerste reproductie en het aantal nakomelingen per broedsel werden vergeleken met behulp van een one-way ANOVA.

In medium zonder fosfaat bleek de somatische groei van *D. magna* slechts marginaal te worden beïnvloed door lanthaan (*Figuur B5A*). Beesten in de 100 en $330 \text{ } \mu\text{g l}^{-1}$ behandelingen waren significant groter dan de beesten in de $1000 \text{ } \mu\text{g l}^{-1}$ behandeling, maar geen van de behandelingen verschilde significant van de controles (*Figuur B5A*).

Echter in medium met fosfaat bleek er een sterk lanthaan-effect (*Figuur B5B*). Repeated measures ANOVA gaf een significant lanthanum effect ($F_{4,39} = 116.1$; $P < 0.001$) en de Tukey's test onthulde vier homogene groepen. In volgorde van grootste naar de kleinste beesten waren deze: 1) 0 en $33 \text{ } \mu\text{g La l}^{-1}$, 2) $100 \text{ } \mu\text{g La l}^{-1}$, 3) $330 \text{ } \mu\text{g La l}^{-1}$ en 4) $1000 \text{ } \mu\text{g La l}^{-1}$.

Vergelijking van de somatische groei van beesten in P-vrij en P-houdend medium toonde aan dat *D. magna* in 0 en $33 \text{ } \mu\text{g La l}^{-1}$ even groot waren (*Tabel B2*). Echter bij blootstelling aan 100, 330 en $1000 \text{ } \mu\text{g La l}^{-1}$ bleek dat *D. magna* significant kleiner was in medium met P dan in P-vrij RT-medium (*Table B2*).



Figuur B5: Lengte (mm ± 1 SD) van *Daphnia magna* blootgesteld aan verschillende concentraties lanthanum (nominaal: 0, 33, 100, 330 and 1000 $\mu\text{g l}^{-1}$) in P-vrij medium (paneel A) en P-houdend medium (fosfaat 330 $\mu\text{g l}^{-1}$, paneel B) gedurende een 14 d experimentele periode.

Tabel B2. Gemiddelde grootte van *Daphnia magna* gedurende de experimentele periode (± 1 SD) in P-vrij medium and P-houdend medium, waarin ze werden blootgesteld aan verschillende concentraies lanthaan (La), inclusief *F* en *P*-waarden van de between-subject effects (aan-/afwezigheid *P* in medium) van repeated measures ANOVAs.

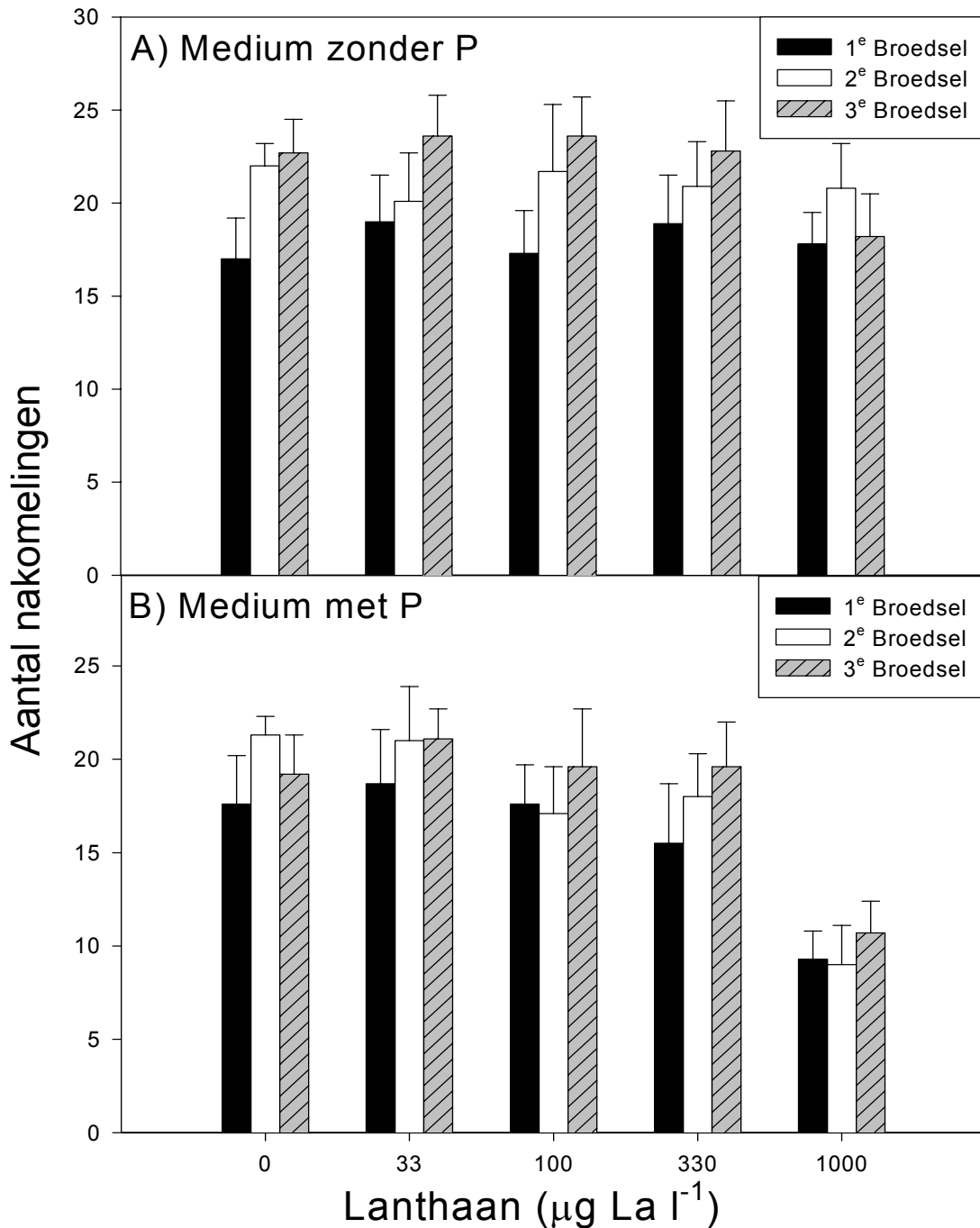
La ($\mu\text{g l}^{-1}$)	Grootte (mm) P-vrij	Grootte (mm) P-houdend	<i>F</i>	<i>P</i>
0	2.94 (0.11)	2.97 (0.03)	0.64	0.434
33	2.95 (0.04)	2.97 (0.03)	2.15	0.160
100	3.03 (0.09)	2.89 (0.04)	19.0	< 0.001
330	3.00 (0.04)	2.81 (0.08)	37.9	< 0.001
1000	2.87 (0.06)	2.47 (0.07)	147.2	< 0.001

In het P-vrije medium was zowel de leeftijd waarop beesten het eerste reproduceerden ($F_{4,42} = 0.56$; $P = 0.694$) als de grootte waarbij ($F_{4,42} = 2.40$; $P = 0.065$) hetzelfde in controles en lanthaanbehandelingen (Tabel B3). In het P-houdende medium was de leeftijd waarop de beesten reproduceerden gelijk ($F_{4,42} = 2.45$; $P = 0.061$), maar was de grootte verschillend ($F_{4,42} = 49.5$; $P < 0.001$). Beesten waren het grootst bij hun eerste reproductie in de controles en het kleinst in de hoogst La dosering (Tabel B3). De overleving was $\geq 80\%$ in controles en behandelingen.

Tabel B3. Life-history karakteristieken: Leeftijd bij eerste reproductie (AFR, d), grootte bij eerste reproductie (SFR, mm), Overleving (%) en populatie groei (d^{-1}) van *Daphnia magna* blootgesteld aan verschillende concentraties lanthaan in P-vrij en P-houdend medium inclusief controles. Symbolen (A,...,E) geven significante verschillen aan (Tukey's post hoc comparison test). AFR en SFR zijn gemiddeldes ± 1 SD, populatie groeisnelheden zijn gemiddeldes ± 1 SE.

P-vrij medium				
Behandeling	AFR (d)	SFR (mm)	Overleving (%)	Populatie groei (d^{-1})
Control	7.9 (0.3) ^A	3.24 (0.08) ^A	90	0.368 (0.026)
33 $\mu\text{g La l}^{-1}$	7.9 (0.3) ^A	3.27 (0.10) ^A	100	0.380 (0.031)
100 $\mu\text{g La l}^{-1}$	7.6 (0.5) ^A	3.30 (0.07) ^A	100	0.383 (0.039)
330 $\mu\text{g La l}^{-1}$	7.8 (0.4) ^A	3.29 (0.07) ^A	90	0.374 (0.032)
1000 $\mu\text{g La l}^{-1}$	7.8 (0.5) ^A	3.19 (0.12) ^A	90	0.360 (0.027)
P-houdend medium				
Behandeling	AFR (d)	SFR (mm)	Overleving (%)	Populatie groei (d^{-1})
Control	7.8 (0.4) ^A	3.28 (0.09) ^{AB}	100	0.376 (0.029)
33 $\mu\text{g La l}^{-1}$	7.9 (0.3) ^A	3.25 (0.07) ^{BC}	100	0.381 (0.036)
100 $\mu\text{g La l}^{-1}$	8.0 (0.0) ^A	3.14 (0.08) ^{CD}	80	0.359 (0.027)
330 $\mu\text{g La l}^{-1}$	8.0 (0.0) ^A	3.13 (0.12) ^D	90	0.348 (0.029)
1000 $\mu\text{g La l}^{-1}$	8.2 (0.4) ^A	2.71 (0.07) ^E	80	0.288 (0.035)

In het P-vrije medium produceerden beesten in controles en behandelingen hetzelfde aantal nakomelingen in het eerste broedsel ($F_{4,42} = 1.44$; $P = 0.240$) en in het tweede broedsel ($F_{4,42} = 1.02$; $P = 0.410$). In het derde broedsel werden er in de hoogste La dosering van 1000 $\mu\text{g La l}^{-1}$ significant minder ($F_{4,42} = 15.0$; $P < 0.001$) nakomelingen geproduceerd (Figuur B6A). Ook de totale reproductie over de drie broedsel was significant lager in de hoogste La dosering (Figuur B6A).



Figuur B6. Aantal nakomelingen (± 1 SD) per *Daphnia magna* in 3 opeenvolgende broedsels van bij blootstelling aan verschillende concentraties lanthaan (nominaal: 0, 33, 100, 330 en 1000 $\mu\text{g l}^{-1}$) in P-vrij medium (paneel A) en P-houdend medium (330 $\mu\text{g fosfaat l}^{-1}$, paneel B).

In het P-houdende medium was de reproductie van beesten in de hoogste La dosering significant lager dan die van beesten die blootgesteld werden aan lagere La concentraties (1^e broedsel $F_{4,42} = 17.6$; $P < 0.001$; 2^e broedsel $F_{4,41} = 41.3$; $P < 0.001$; 3^e broedsel $F_{4,41} = 34.6$; $P < 0.001$; *Figuur B6B*).

De intrinsieke populatiegroeisnelheden waren zeer goed voor watervlooien die gekweekt werden in het P-vrije medium, ongeacht de La concentraties. Hetzelfde gold voor beesten in P-houdend medium in afwezigheid van lanthaan en bij 33 µg La l⁻¹ (*Tabel B3*). Populatiegroeisnelheden in het P-houdende medium met 100 and 330 µg La l⁻¹ waren respectievelijk 6% en 7% lager dan in het P-vrije medium bij dezelfde La concentraties, terwijl in de hoogste dosering dit zelfs 2% lager was (*Tabel B3*). De belangrijkste reden voor de lagere populatiegroei is de significant lagere reproductie in P-houdend medium met 1000 µg La l⁻¹.

De resultaten van deze gecontroleerde experimenten laten zien dat er geen nadelige effecten van Phoslock[®] of het actieve ingrediënt lanthaan op *Daphnia* verwacht worden.

De veldgegevens lieten wel een mogelijk indirect effect zien. Het kraakheldere water en de zeer geringe hoeveelheid voedsel (1 µg chlorofyl-*a* l⁻¹) hebben ongetwijfeld voor een ernstige voedsellimitatie van de voor de applicatie aanwezige *Daphnia* gezorgd.