CML

Centrum voor Milieuwetenschappen

‘Biotic Ligand Models’ voor de effectmodellering van metalen in enkele Nederlandse oppervlaktewateren

Eindrapport, mei 2006

Arjan de Koning
Martina G. Vijver

CML rapport 168
Afdeling Milieubiologie & afdeling Industriële Ecologie

Universiteit Leiden

‘Biotic Ligand Models’ voor de effectmodellering van metalen in enkele Nederlandse oppervlaktewateren

Eindrapport, mei 2006

Arjan de Koning
Martina G. Vijver

Projectleiding Jeroen Guinée

Centrum voor Milieuwetenschappen
Universiteit Leiden
Postbus 9518
2300 RA Leiden
Nederland

CML rapport 168
Afdeling Milieubiologie & afdeling Industriële Ecologie

Dit rapport kan op de volgende wijze worden besteld:
– telefonisch: 31-71-5277485
– schriftelijk: Bibliotheek CML, Postbus 9518, 2300 RA Leiden, Nederland
– fax: 31-71-5275587
Hierbij graag duidelijk rapportnummer, naam besteller en verzendadres aangeven

ISBN-10: 90-5191-145-9
ISBN-13: 978-90-5191-145-9
Druk: Universitair Grafisch Bedrijf, Leiden
© Instituut voor Milieuwetenschappen, Leiden, 2006

Voorwoord

Dit rapport beschrijft de toepassing van recent ontwikkelde Biotic Ligand Modellen (BLMs) op de effectmodellering van metalen in enkele Nederlandse oppervlaktewateren. BLMs zijn modellen gebaseerd op wetenschappelijke kennis over de belangrijkste blootstellings- en effectmechanismen van metalen. Het toepassen van deze modellen zal het mogelijk maken de effecten van metalen of combinaties van metalen zo te modelleren dat rekening gehouden wordt met de watersamenstelling. Daarmee kan mogelijk een verfijning in de effectvoorspelling worden bewerkstelligd.

In deze verkennende studie is allereerst een inventarisatie gemaakt van BLMs die ontwikkeld zijn in het kader van regelgeving in de EU en de USA. De verschillen tussen de EU en USA modellen worden bediscussieerd. De BLMs ontwikkeld in het kader van de EU-regelgeving zijn daarna toegepast op een negental Nederlandse oppervlaktewaterlocaties. De resultaten worden hier gepresenteerd en besproken. Hierbij wordt speciaal gelet op verschillen tussen een niet voor biobeschikbaarheid gecorrigeerde effectvoorspelling en watertype specifieke, biobeschikbaarheids gecorrigeerde effectvoorspelling.

Wij menen dat dit rapport een betrouwbaar beeld geeft van de systematiek voor het afleiden van ecologische effectvoorspellingen op basis van watertype specifieke metaal speciatie.

Leiden, mei 2006

Inhoud

Samenvatting....8
1 Kader van het onderzoek....10
1.1 Probleemstelling....10
1.2 Doel....11
2 De effectbeoordelingsmodellen....12
2.1 Huidige normstelling voor water....12
2.1.1 Metaal beschikbaarheid in watermonsters (monitoringsprogramma)....12
2.1.2 Metaal beschikbaarheid in toxiciteitstesten....12
2.2 Biotic Ligand Modellen....13
3 Methodiek....17
3.1 Overzicht....17
3.2 Inventarisatie van beschikbare 'Biotic Ligand Models'....17
3.3 Watertype specifieke metaalspeciatie....18
3.4 Berekening van de potentieel aangetaste fractie (PAF)....19
4 Resultaten....23
4.1 Inventarisatie 'Biotic Ligand Models'....23
4.1.1 Overzicht alle modellen....23
4.1.2 Koper....23
4.1.3 Zink....31
4.1.4 Cadmium....37
4.2 Berekening speciatie in oppervlaktewater....38
4.3 Potentieel aangetaste fracties....41
4.3.1 Selectie toxiciteitsgegevens....41
4.3.2 PAF op basis totaal concentraties metalen....43
4.3.3 PAF door koper....45
4.3.4 PAF door Zink....50
4.3.5 PAF door Cadmium....54
4.3.6 Variatie PAF in de tijd....57
5 Discussie....59
5.1 Inventarisatie BLMs....59
5.1.1 Alle BLMs....59
5.1.2 Het verschil tussen de metalen....59
5.1.3 De verschillen van BLMs afgeleid uit USA onderzoek versus EU onderzoek....60
5.2 Betrouwbaarheid van de berekeningen....61
5.2.1 Algemeen....61
5.2.2 Anorganische speciatie....61
5.2.3 Bindingsconstanten biotisch ligand model....63
5.2.4 Toepassingsgebied van de BLMs....63
5.3 Vergelijking gecorrigeerde en niet-gecorrigeerde effectconcentraties....64
5.3.1 De verschuiving van NOECs en SSDs....64

5.3.2 Het gebruik van PAF 65
5.3.3 Watertype en tijdsafhankelijke effectvoorspelling 65
Referenties 66
Appendix A: Complexatie reacties macro-ionen 73
Appendix B: Mathematische beschrijving van het Biotic Ligand Model 74

Samenvatting

‘Biotic Ligand Models’ (BLMs) gebruiken kennis over de biobeschikbaarheid van metalen om de toxische effecten van metalen te voorspellen. De BLMs nemen het gecombineerde effect van metaalspeciatie, binding aan de receptoren van een organisme, en competitie met andere ionen op de toxiciteit van metalen in beschouwing. De toxiciteit wordt zo een functie van de watersamenstelling, waardoor een plaats- en tijdsafhankelijke effectbeoordeling kan worden uitgevoerd.

Er is een inventarisatie gemaakt van BLMs die de chronische effecten van koper, zink en cadmium op verschillende organismen beschrijven. De BLMs zoals gebruikt binnen de Europese risicoanalyse van stoffen zijn vervolgens geselecteerd voor het berekenen van watertype specifieke soortgevoeligheids verdelingscurven (SSD-curven of cumulatieve frequentie verdelingen) op negen locaties. De geselecteerd locaties zijn allen Rijkswateren variërend van Lobith, Kanaal van Sas van Gent naar Terneuzen tot het Veluwemeer. Voor deze locaties zijn voor biobeschikbaarheid gecorrigeerde SSD-curven vergeleken met de SSD-curven die niet voor biobeschikbaarheid zijn gecorrigeerd.

De inventarisatie laat zien dat de volgende BLMs voor chronische effecten beschikbaar zijn: effecten van koper op watervlooien en vissen, effecten van zink op watervlooien en vissen. Voor de chronische effecten van koper en zink op algen is geen volledig BLM beschikbaar dat wil zeggen, er zijn geen bindingsconstanten van koper of zink op het biotisch ligand van algen bepaald. Wel is er een regressie model dat de chronische toxiciteit van koper of zink op algen als functie van de pH van het water voorspeld. Het cadmium model zoals gehanteerd in de Europese risicoanalyse is alleen een correctie voor de hardheid van het water. Deze correctie is voor alle typen organismen gelijk.

Een analyse van de betrouwbaarheid van de BLMs laat zien dat het voorspellen van de waargenomen chronische toxiciteit van Cu en Zn op algen, watervlooien en vissen over het algemeen goed gaat. Er is geen systematische onder- of overschatting van de waargenomen NOECs en veelal is de afwijking tussen waargenomen NOECs en voorspelde NOECs kleiner dan een factor twee. Er zijn enkele gevallen waarin het verschil tussen de waargenomen NOECs en voorspelde NOECs groter is dan een factor 2. Enkele factoren die kunnen leiden tot een afwijking tussen waargenomen NOECs en met behulp van BLMs voorspelde NOECs zijn onzekerheden in de anorganische speciatie, onzekerheden in de BLM bindingsconstanten en gebruik van BLMs buiten hun oorspronkelijke toepassingsdomein.

Resultaat van het gebruik van de voor biobeschikbaarheid gecorrigeerde SSD-curve op de negen locaties, laat zien dat de cumulatieve frequentie verdeling soms naar

lagere en soms naar hogere metaal concentraties verschuift. Voor koper verschuift de biobeschikbaarheids gecorrigeerde frequentie-curve voor de negen locaties naar lagere koperconcentraties. Dit is te zien in onderstaande tabel waar de HC_{50}'s afgeleid van de cumulatieve frequentie verdeling zijn vergeleken. De $HC_{50,gecorrigeerd}/HC_{50,ongecorrigeerd}$ is een robuuste maat voor de gemiddelde verschuiving van de frequentie-curve door toedoen van de biobeschikbaarheidscorrectie. Overigens hoeft een verschuiving van de HC_{50}-waarde door de biobeschikbaarheidscorrectie niet te betekenen dat de HC_5-waarde op eenzelfde wijze zal verschuiven door de biobeschikbaarheidscorrectie. Immers de vorm van de frequentie-curve verandert ook door de biobeschikbaarheidscorrectie. Voor koper is de gemiddelde verschuiving is in de orde grootte van een factor 5.6 tot 1.9 ***lager***. Voor zink en cadmium schuiven de SSD-curven op de negen locaties naar gemiddeld ***hogere*** metaal concentraties.

watertype	koper	zink	cadmium
	$HC_{50,gecorrigeerd}$ / $HC_{50,ongecorrigeerd}$	$HC_{50,gecorrigeerd}$ / $HC_{50,ongecorrigeerd}$	$HC_{50,gecorrigeerd}$ / $HC_{50,ongecorrigeerd}$
Amsterdam	0.50	1.7	2.2
Bovensluis	0.18	1.1	1.9
Eemmeerdijk	0.54	2.0	2.0
Eijsden	0.21	1.1	1.7
Kampen	0.25	1.3	1.8
Keizersveer	0.26	1.2	1.7
Lobith	0.18	1.4	3.0
Sas van Gent	0.49	3.6	6.5
Veluwemeer	0.50	2.1	2.2

Of de gecorrigeerde NOECs hoger of lager uitvallen dan de ongecorrigeerde NOECs is afhankelijk van het verschil in de biobeschikbaarheid van het metaal in de toxiciteitstest versus de locatiespecifieke biobeschikbaarheid van het metaal. Indien alle NOECs waren gemeten in een testmedium zonder DOC en hele lage macro-ion concentraties (dus heel hoge biobeschikbaarheid) zouden deze NOECs omgerekend naar de watereigenschappen van natuurlijke wateren waarschijnlijk allemaal hoger uitvallen omdat de biobeschikbaarheid van metalen in natuurlijke wateren over het algemeen veel lager is.

1 Kader van het onderzoek

1.1 Probleemstelling

Resultaten van monitoringsprogramma's geven vaak blijk van verhoogde concentraties metalen in oppervlaktewater. Met name voor de metalen koper en zink wordt vaak gevonden dat de concentraties hoger zijn dan de Nederlandse waternormen (RIVM, 2004). Dit wordt eveneens bevestigd door lopende inventarisaties van de probleemstoffen in oppervlaktewateren in het kader van de Europese Kaderrichtlijn Water (KRW; uitgevoerd door verschillende waterschappen).

Ondanks dat er verhoogde metaalconcentraties in de watergangen gedetecteerd worden, worden er geen directe effecten van metalen in het aquatische ecosysteem waargenomen. Een mogelijke verklaring is de biobeschikbaarheid van metalen. Het is bekend dat de accumulatie en effecten van metalen in het aquatische milieu in belangrijke mate worden bepaald door de chemische speciatie van de metalen (zie bijvoorbeeld Waiwood & Beamish, 1978). Door fysische en chemische interacties met de andere bestanddelen in het water, zal het metaal in verschillende vormen aanwezig zijn. Zo kan het metaal voorkomen als vrij gehydrateerd ion, gebonden aan anorganische en organische complexen of gebonden aan anorganische en organische colloïden of partikels. Niet alle chemische species zijn beschikbaar voor organismen. Alleen de biologisch beschikbare metaalspecies worden opgenomen en kunnen toxische effecten veroorzaken.

Het zogenoemde Biotic Ligand Model (BLM) neemt het gecombineerde effect van metaalspeciatie, binding aan de receptoren van een organisme, en competitie met andere ionen op de toxiciteit van metalen in beschouwing. Het BLM is daarmee een verdere extensie van het Free Ion Activity Model (FIAM: Morel, 1983), want het neemt ook de binding van de metalen aan het opname-membraan van een organisme in beschouwing, inclusief competitie met andere ionen in het aquatische milieu en combineert dit met generieke effectmechanismen. De toxiciteit wordt zo een functie van de watersamenstelling, waardoor een plaats- en tijdsafhankelijke effectbeoordeling kan worden uitgevoerd.

Om effectbeoordelingen te maken en daarbij milieukwaliteitsnormen af te leiden, worden sinds de tachtiger jaren soortgevoeligheids verdelingscurven toegepast binnen het Nederlandse en Europese milieubeleid. Vanuit de praktijk van risicobeoordeling is er een sterke wens geuit om na te gaan of biologische beschikbaarheid in de risicobeoordeling, waar nodig, meegenomen kan worden. Het vermoeden dat de huidige normstelling en met name de toetsing aan de normen een overschatting van de risico's geven, ligt ten grondslag aan die wens. Binnen de EU worden momenteel de

risicobeoordelingen voor zware metalen uitgewerkt waarin voor het watercompartiment BLM-modellen worden toegepast.

1.2 Doel

Doel van dit onderzoek is om te kijken of de voorspelling van effecten met behulp van BLMs een andere inschatting geeft dan de huidige effect-inschattingen gebaseerd op totaal opgeloste concentraties.

De verwachting is dat met BLMs tot meer realistische effect-inschattingen kan worden gekomen. De meest recente inzichten en operationele modellen inzake de biobeschikbaarheid vinden hiermee een plaats binnen de effectbeoordeling van metalen.

Het gaat hierbij om een verkennend onderzoek en is vooral bedoeld om de praktische mogelijkheden en moeilijkheden van het toepassen van de BLMs te onderzoeken. Daarom wordt deze studie in eerste instantie beperkt tot een gering aantal Nederlandse watertypen en wordt een gering aantal toxiciteitstesten gebruikt om watertype specifieke effectbeoordeling uit te voeren.

Allereerst wordt een inventarisatie uitgevoerd van de in Europa en de USA ontwikkelde BLMs voor metalen. Opvallende verschillen tussen de BLMs worden besproken. Een kritische evaluatie van de BLMs valt buiten de doelstelling van dit project. De besproken BLMs komen uit (concept-) 'European Union risk assessment reports' (RARs), wat inhoudt dat enkele modellen nog aan ontwikkelingen onderhevig zijn. De BLM-modellen zullen worden gekoppeld aan soortgevoeligheid verdelingscurven opgesteld uit de no-effect concentrations (NOECs) voor de geselecteerde organismen.

Implementatie van de "nieuwe" effectmodellen zal leiden tot een herberekening van de aquatische toxiciteit van oppervlaktewater veroorzaakt door een metaal. Het effect van mengsels van metalen in afhankelijkheid van de watersamenstelling zal eveneens worden berekend. In de toekomst kan uiteindelijk middels een GIS-toepassing deze mengsel toxiciteit voor de Nederlandse situatie worden gekarteerd.

De kern van dit onderzoek is een technische verkenning van de mogelijkheden en moeilijkheden van het gebruik van BLMs. Tevens worden de verschillen tussen een effectvoorspelling gebaseerd op basis van totaal opgelost metaal en op basis van de BLMs onderzocht. Dit onderzoek is niet bedoeld om de praktijk van de normstelling te veranderen. Wel zal in de evaluatie van het technisch resultaat aandacht worden besteed aan het eventueel gebruik van BLMs binnen de normstelling.

2 De effectbeoordelingsmodellen

2.1 Huidige normstelling voor water

2.1.1 Metaal beschikbaarheid in watermonsters (monitoringsprogramma)

Volgens vooropgezet plan, wordt elk jaar een aantal keer de eigenschappen van het oppervlaktewater op een aantal locaties bepaald (RIZA, 2004). De resultaten van dit monitoringsprogramma worden beschikbaar gemaakt via *www.waterbase.nl* (ruwe metingen) en *www.waterstat.nl* (kengetallen). In deze monitoring worden onder andere concentraties van metalen gemeten. De metaalconcentraties worden gemeten in ongefiltreerd water dan wel na filtratie over 0.45µm.

Voor het vergelijken van de gemeten metaalconcentraties met de normen worden de metingen uit de ongefilterde monsters gebruikt. Bij het toetsen aan een norm op basis van de 'totale concentratie' wordt uitgegaan van een concentratie aan zwevend stof in het water van 30 $mg.L^{-1}$, en een samenstelling van zwevend stof van 20% organisch stof en 40% klei (VROM & VW, 2004). Voor de omrekening van 'opgeloste concentratie' naar 'totale concentratie' is tenslotte nodig dat de zwevend stof/water partitiecoëfficiënt (K_p) bekend is. De zwevend stof concentratie wordt over het algemeen gemeten binnen meetprogramma's. Het afleiden van een systeemeigen K_p is voor weinig situaties mogelijk. In dat geval moet gebruik worden gemaakt van generieke waarden voor de K_p. Deze standaardisatie veronderstelt dat de biobeschikbaarheid van een metaal alleen wordt bepaald door het zwevend stof concentratie. De overige parameters van invloed op de metaalspeciatie worden genegeerd.

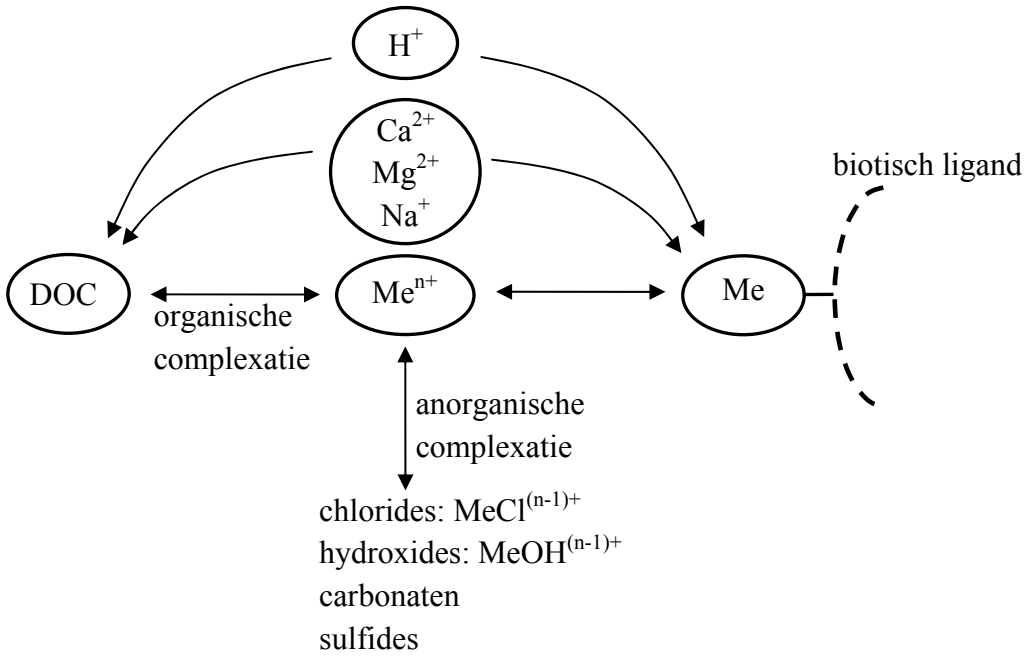
2.1.2 Metaal beschikbaarheid in toxiciteitstesten

In de huidige praktijk wordt voor de onderbouwing van de waternormen er van uitgegaan dat de gerapporteerde (gemeten) concentratie in aquatische toxiciteitstesten volledig biologische beschikbaar is. Deze concentratie wordt de 'opgeloste concentratie' genoemd (Sijm *et al.*, 2002). De resultaten van de toxiciteitstesten worden dus niet gecorrigeerd voor een eventueel verminderde biologische beschikbaarheid tengevolge van de specifieke chemische toestand van het testwater of voor de invloed van organisch materiaal. In principe zijn de eindpunten (b.v. reproductie, mortaliteit), zoals bepaald in de toxiciteitstesten, gebaseerd op gemeten concentraties na filtratie over 0.45 µm, zodat alleen werkelijk opgeloste metalen bepaald zijn. Deze methode onderkent daarmee de biobeschikbaarheid van metalen. Precipitatie van metaal, binding aan anorganische of organische liganden, zwevende deeltjes of glas (van de testvaten) worden niet betrokken in de toxiciteitsbeoordeling.

Uit bovenstaande blijkt dat biobeschikbaarheid een rol speelt in zowel de normafleiding als de blootstellingsbeoordeling.

2.2 Biotic Ligand Modellen

Biotic Ligand Modellen worden ontwikkeld op basis van wetenschappelijke kennis over de belangrijkste blootstellings- en effectmechanismen van metalen. Het BLM is een mechanistisch model dat zowel de chemische toestand van het milieu beschrijft, als de interactie met de biologische receptor. Het BLM komt voort uit de koppeling van twee concepten die eerder ontstaan zijn uit ecotoxicologisch onderzoek: het kieuw-interactiemodel voor vissen (Pagenkopf, 1983), en het vrije ion-activiteitsmodel (Morel, 1983). Figuur 1 geeft een overzicht van de processen waarop de BLM theorie is gebaseerd.



Figuur 1: Conceptueel raamwerk van de BLM modellering. In het linkergedeelte van de figuur is de metaalspeciatie weergegeven. Het rechtergedeelte van de figuur geeft het biotische ligand weer waaraan een metaal gebonden is op een bindingsplaats.

Het fysisch-chemische gedeelte van de modellering is gebaseerd op de 'Free Ion Activity Modelling' (FIAM) theorie (Morel, 1983). Deze gaat er vanuit dat het vrije metaalion beschikbaar is voor een organisme. De concentratie vrije metaalionen is afhankelijk van de watersamenstelling. Het organisme wordt gezien als een biotisch ligand, waarop het metaal kan binden. De hoeveelheid metaal die bindt op het biotische ligand wordt bepaald door de pH van het water, competitie met andere

kationen in het water en andere beschikbare liganden, zoals opgeloste organische stof, carbonaten, chlorides, etc. die ook aanwezig zijn in het water.

De watersamenstelling heeft invloed op deze binding door competitie en complexatie mechanismen welke zijn uitwerking hebben op de metaalaccumulatie en effecten voor het organisme (Paquin *et al.*, 2002).

Het ecotoxicologische gedeelte van de modellering is gebaseerd op de kieuwoppervlakte theorie (GSIM = gill surface interaction model) voor regenboogforellen zoals geformuleerd door Pagenkopf (1983). Kieuwen hebben een extreme affiniteit voor ionen en zijn daardoor erg gevoelig voor ionogene toxische stoffen. Toxische stoffen op de bindingsplaatsen van de kieuwen verstoren de osmotische balans in vissen, de bloedsamenstelling en ze hebben directe effecten op het respiratie-systeem. Dit toxiciteitsmechanisme van metalen is in detail uitgezocht voor de regenboogforel.

Gebaseerd op de bevindingen van Pagenkopf wordt er binnen het BLM-raamwerk aangenomen dat de metaalconcentratie op de kieuwen proportioneel gerelateerd is aan het initiële acute effect. De watersamenstelling heeft invloed op deze binding door competitie en complexatie mechanismen welke zijn uitwerking hebben op de metaalaccumulatie en effecten voor het organisme (Paquin *et al.*, 2002). De voorspellingen op basis van dit mechanisme gelden echter voor meerdere aquatische, kieuwhoudende organismen. De Biotic Ligand concentratie bij andere organismen dan de kieuwhoudende organismen, is niet gebaseerd op een receptor mechanisme op de kieuw maar wordt inverse (= terugwerkende benadering) gemodelleerd. Het generieke mechanisme achter de acute metaaltoxiciteit voor aquatische organismen is gebaseerd op het idee dat sterfte optreedt wanneer de hoeveelheid metaal gebonden op het biotisch ligand een kritische concentratie bereikt. Dit mechanisme - dat alleen voor vissen is bewezen - wordt ook verondersteld bij de beschrijving van acute toxiciteit voor andere organismen.

Het BLM concept kent enkele aannames. De belangrijkste aannames - betrekking hebbende op de berekening van de speciatie in oplossing, binding aan het biotisch ligand en de relatie tussen accumulatie op het biotisch ligand en effectmechanisme – worden hieronder gegeven. Aannames die betrekking hebben op de berekening van de speciatie zijn:

- De metaalconcentratie in oplossing wordt niet beïnvloed door opname door de biota.
- De opname van metaal door het organisme vanuit z'n omgeving is niet kinetisch gelimiteerd.
- Transport naar of binding aan het biotisch ligand is niet kinetisch gelimiteerd.

Belangrijke aannames die gelden voor biota zijn:

- Accumulatie van het metaal op het biotisch ligand is mono lineair[1] gerelateerd aan het eerst optredende effect (meest gevoelige effect).
- Adaptatie van het organisme aan de desbetreffende metaalconcentratie speelt geen rol.
- Het biotisch ligand verandert niet gedurende het experiment.
- Metaal opname via ingestie wordt niet meegenomen.

Zoals eerder gezegd wordt in het BLM raamwerk verondersteld dat de hoeveelheid metaal gebonden aan het biotisch ligand bepalend is voor het effect op het organisme. Bij eenzelfde fractionele bezetting van het biotisch ligand door het metaal wordt verondersteld dat er eenzelfde effect optreedt ongeacht de watereigenschappen waarin de effectmeting plaatsvindt.

Het BLM kan, afgeleid vanuit enkele eenvoudige reactievergelijkingen, worden weergegeven in één enkele vergelijking. Een stap voor stap mathematische uitwerking van het BLM wordt gegeven in Appendix B. Als voorbeeld geven we hier de vergelijking van het BLM dat de chronische effecten van zink op *Daphnia magna* beschrijft. Calcium, magnesium, natrium en het waterstof-ion concurreren met zink om dezelfde bindingsplaatsen op het biotisch ligand. Het 'no-effect level' is gerelateerd aan de binding van zink op het biotisch ligand volgens:

$$\mathrm{NOEC}_{Zn^{2+}} = \frac{f_{\mathrm{ZnBL}}^{\mathrm{NOEC}}}{1 - f_{\mathrm{ZnBL}}^{\mathrm{NOEC}}} \times \ldots \ldots \left(\frac{1 + K_{\mathrm{CaBL}} \times (\mathrm{Ca}^{2+}) + K_{\mathrm{MgBL}} \times (\mathrm{Mg}^{2+}) + K_{\mathrm{NaBL}} \times (\mathrm{Na}^{+}) + K_{\mathrm{HBL}} \times (\mathrm{H}^{+})}{K_{\mathrm{ZnBL}}} \right) \quad (1)$$

waarbij:

$\mathrm{NOEC}_{Zn^{2+}}$ = het gemeten 'no-effect level' uitgedrukt in de vrije zink ion activiteit (mol.L^{-1}).

$f_{\mathrm{ZnBL}}^{\mathrm{NOEC}}$ = de fractie van de zink bindingsplaatsen die bezet zijn met zink op het 'no-effect level'.

K_{ZnBL} = bindingsconstante van het zink-ion op het biotisch ligand

K_{CaBL} = bindingsconstante van het calcium-ion op het biotisch ligand

K_{MgBL} = bindingsconstante van het magnesium-ion op het biotisch ligand

K_{NaBL} = bindingsconstante van het natrium-ion op het biotisch ligand

K_{HBL} = bindingsconstante van het waterstof-ion op het biotisch ligand

(Ca^{2+}) = activiteit van het calcium ion in de waterfase (mol.L^{-1})

(Mg^{2+}) = activiteit van het magnesium ion in de waterfase (mol.L^{-1})

[1] Mono-lineair wil zeggen dat er slechts één parameter het resultaat bepaalt (y=ax+b). Bi-lineaire of multi-lineaire relaties zijn relaties waarbij twee of meer parameters het resultaat bepalen (y=ax+by+c).

(Na^{+}) = activiteit van het natrium ion in de waterfase ($mol.L^{-1}$)
(H^{+}) = activiteit van het waterstof ion in de waterfase ($mol.L^{-1}$)

Vergelijking 1 kan in twee delen gesplitst worden. Het eerste deel dat gegeven wordt door $f_{\mathrm{ZnBL}}^{\mathrm{NOEC}} / \left(1 - f_{\mathrm{ZnBL}}^{\mathrm{NOEC}}\right)$ kan beschouwd worden als de intrinsieke gevoeligheid van de watervlooien voor zink. Het tweede deel, dat gegeven wordt door $\left(1 + K_{\mathrm{CaBL}}(\mathrm{Ca}^{2+}) + K_{\mathrm{MgBL}}(\mathrm{Mg}^{2+}) + \ldots\right) / K_{\mathrm{ZnBL}}$, kan gezien worden als de parameter die de invloed van de watereigenschappen op de toxiciteit beschrijft. We noemen deze parameter de 'environmental moderator'.

Alle BLMs besproken in dit rapport kunnen op een vergelijkbare wijze als in vergelijking 1 worden uitgesplitst in twee delen. Indien een set van waargenomen NOECs gemeten in verschillende watertypen zou worden uitgezet tegen de berekende 'environmental moderator' voor elke meting, dan volgt hieruit een lineaire relatie met een hellingshoek $f_{\mathrm{MeBL}}^{\mathrm{NOEC}} / \left(1 - f_{\mathrm{MeBL}}^{\mathrm{NOEC}}\right)$, indien het BLM correct is. Een dergelijke plot geeft een indicatie van de onnauwkeurigheid en juistheid van het gehanteerde BLM. Tevens kan in zo'n plot grafisch worden weergegeven hoe de NOECs gemeten in verschillende watertypen worden omgerekend naar NOECs geldig voor één specifiek watertype. Dit wordt in detail behandeld in Hoofdstuk 3.

3 Methodiek

3.1 Overzicht

Om tot een watertype specifieke effectbeoordeling van Cu, Zn en Cd te komen, wordt een aantal onderzoekstappen doorlopen. Deze worden hier kort opgesomd, details van de berekening zijn in de navolgende paragrafen uitgelegd.

Stap 1: Inventarisatie van de modellen voor aquatische toxiciteit welke rekening houden met de biobeschikbaarheid van metalen zoals ontwikkeld en gevalideerd binnen het Europese stoffenbeleid. Eveneens wordt gekeken naar de aquatische effectmodellen zoals opgesteld voor het Amerikaanse waterbeleid.

Stap 2: Berekening speciatie van metalen voor een negental verschillende locaties in de Nederlandse oppervlaktewateren. De locaties zijn gekozen op basis van de beschikbaarheid van meetgegevens. Het is namelijk van belang dat alle benodigde gegevens op de locatie op hetzelfde tijdstip bekend zijn.

Stap 3: Berekening van de watertype specifieke 'no observed effect concentration' (NOEC) voor de individuele metalen, waarbij een selectie van relevante toxiciteitsgegevens wordt gebruikt. Deze NOECs worden gebruikt voor het maken van watertype specifieke soortgevoeligheid verdelingscurven. Met deze verdelingscurven kan het effectniveau van de individuele metalen geschat worden. Alleen die toxiciteitsgegevens zijn geselecteerd waarvoor alle relevante parameters beschikbaar waren om BLM modellering mogelijk te maken.

3.2 Inventarisatie van beschikbare 'Biotic Ligand Models'

De inventarisatie betreft de volgende metalen: Cu, Zn, en Cd. Deze drie metalen zijn gekozen omdat er veel gegevens beschikbaar zijn met betrekking tot deze metalen. Ze worden naast Ni, Pb, Cr, Hg en As gezien als "probleem" metalen in Nederlandse oppervlaktewateren. De concentraties van Cu en Zn zijn veelal boven de huidige MTR norm (RIVM, 2004).

Voor Cu en Zn zijn de meeste van de benodigde gegevens te vinden in de concept RAR en achtergrond documenten over deze metalen. Deze RAR documenten zijn echter nog in ontwikkeling of staan nog onder embargo. In onze studie wordt gebruik gemaakt van gegevens uit deze documenten, en daarom moet onze studie dan ook vertrouwelijk behandeld worden. Kennis vanuit de RAR documenten wordt gespecificeerd vanuit de onderliggende wetenschappelijke literatuur.

Voor Cd is er een concept RAR document, waarin geen gebruik wordt gemaakt van reeds ontwikkelde Cd-BLMs. In dit rapport wordt het Cd-RAR gevolgd en de

effectbeoordeling wordt daarom op basis van bestaande kennis (bijvoorbeeld opgeloste fracties) bekeken.

Bij de inventarisatie is er eerst een overzicht gemaakt van de beschikbare BLMs per metaal. Dit zijn zowel BLMs die acute effecten als chronische effecten beschrijven. Bij de toepassing van BLMs in de verdere stappen van dit onderzoek, zullen we ons concentreren op de BLMs die chronische effecten beschrijven. Daarbij is er gezocht naar chronische BLMs voor zoveel mogelijk verschillende trofische niveaus.

3.3 Watertype specifieke metaalspeciatie

Kennis over de verdeling van een metaal over de verschillende wateroplosbare fracties is noodzakelijk voor een watertype specifieke effectbeoordeling met behulp van BLMs. Om deze verdeling te kunnen berekenen moet naast de totaal opgeloste hoeveelheid metaal ook een aantal macrochemische parameters van het oppervlaktewater bekend zijn. Macrochemische parameters zijn onder andere de pH, temperatuur, opgeloste hoeveelheid organische stof, calcium- en magnesiumconcentratie.

In dit project zijn deze parameters opgezocht voor enkele Rijkswateren. Hiertoe zijn monitoringsgegevens uit twee verschillende databases van het CIW-meetnet gehaald. Deze monitoringsgegevens geven een representatief beeld van de waterkwaliteit op een bepaalde locatie in een bepaald jaar. In principe zijn de meest recent beschikbare gegevens uit deze databases gehaald. Voor alle metaalconcentraties (Cu, Zn, en Cd) is dit het jaar 2003. In sommige gevallen waren voor macrochemische parameters zoals calcium- en magnesiumconcentratie geen gegevens uit 2003 beschikbaar en is teruggevallen op oudere gegevens. Tijdreeksen van deze macronutriënten op de desbetreffende locaties laten zien dat de jaargemiddelde concentraties van macronutriënten nauwelijks variëren.

Met behulp van de verzamelde gegevens en het WHAM-computerprogramma[2] kan de speciatie van Cu, Zn, en Cd en activiteiten van andere macro-ionen berekend worden

[2] Er wordt op drie verschillende manieren naar WHAM verwezen in dit rapport. Ten eerste staat WHAM voor het Windermere Humic Acid Model. Dit is het conceptuele model dat de binding van metalen aan opgeloste organische stof beschrijft. Een zesde versie van dit model is in 1998 gepubliceerd door E. Tipping (1998). Ten tweede wordt met WHAM het computerprogramma aangeduid waarmee de speciatie van metalen in oppervlaktewater kan worden berekend. Dit computerprogramma bevat onder andere de implementatie van het (conceptuele) WHAM organische stof model. Ten derde wordt er ook gerefereerd aan de WHAM-database. Deze bevat de specificaties van de chemische reacties waarmee het WHAM-computerprogramma de speciatie kan berekenen. Het WHAM-computerprogramma wordt geleverd met een default database. Deze database is gewijzigd in dit project.

op de locatie. WHAM bevat informatie over de reacties die metalen aangaan met de anorganische liganden (OH^-, Cl^-, SO_4^{2-} etc.) en opgeloste organische stof. Relevante reacties en reactieconstanten worden besproken in paragraaf 4.1, Inventarisatie 'Biotic Ligand Models'. Deze berekeningsstap is de eerste in een reeks van berekeningsstappen die noodzakelijk zijn om watertype specifieke soortgevoeligheids verdelingscurven te berekenen. Een overzicht van alle berekeningsstappen is weergegeven in Figuur 2.

3.4 Berekening van de potentieel aangetaste fractie (PAF)

De PAF is voorgesteld als operationeel ecotoxicologisch eindpunt voor het schatten van mogelijke effecten van toxische stoffen op soorten die belangrijk zijn in de ecologische effectbeoordeling (Posthuma *et al.*, 2002; etc.). De PAF staat voor de fractie aan soorten die blootgesteld is aan toxicologisch significante effect concentraties, zoals de NOEC of EC_x (effect concentratie waarop x% aangetast is). Relevante eindpunten voor de bescherming van een ecosysteem zijn NOECs op basis van groei en reproductie. De soortgevoeligheids verdelingscurve (SSD) kan worden geïnterpreteerd als de toxische belasting die op een ecosysteem ontstaat bij een zekere concentratie van toxische stoffen. Voor een gedetailleerde beschrijving van het SSD concept zie Van de Meent (1999) en Posthuma *et al.* (2002).

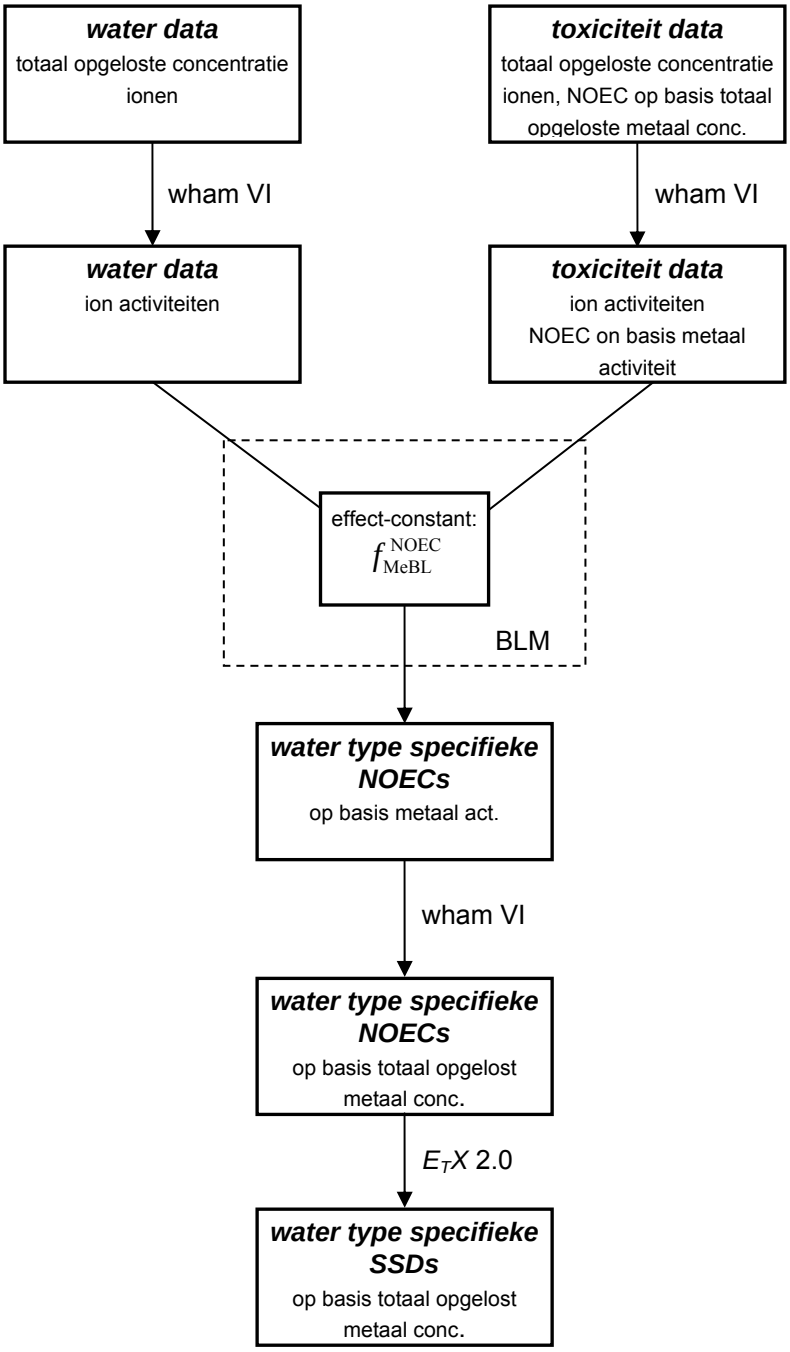
Soortgevoeligheids verdelingscurven worden gegenereerd door de toxiciteit van een stof op verschillende organismen onder laboratorium condities te testen. Bij de onderzochte effect concentratie (NOEC, EC_x) hoort een bepaalde blootstellingconcentratie die in conventionele studies als totaal concentratie wordt gegeven. Om de daarbij behorende NOECs te kunnen gebruiken voor het opstellen van de waterspecifieke soortgevoeligheids verdelingscurven is een aantal berekeningsstappen nodig waarbij BLMs noodzakelijk zijn. Een overzicht van deze berekeningsstappen is gegeven in Figuur 2. De opeenvolgende stappen worden hieronder uitgelegd.

Als eerste stap in het berekenen van de watertype specifieke soortgevoeligheids verdelingscurven moeten de activiteiten van metalen en macro-ionen in de geselecteerde wateren worden berekend. Dit wordt gedaan met behulp van WHAM VI en is beschreven in de voorgaande paragraaf. Ook de toxiciteitsgegevens, gegeven in totaal opgelost metaal, moeten worden omgerekend in activiteit van het metaal-ion en activiteiten van de macro-ionen. Dit wordt eveneens gedaan met behulp van WHAM VI.

Vervolgens worden, in het centrale onderdeel van de berekening, de BLMs toegepast om de NOECs, gemeten onder allerlei experimentele omstandigheden, om te rekenen naar NOECs voor een bepaald watertype. In de eerste stap van die berekening wordt per gemeten toxiciteitsgegeven, de fractie van de bindingsplaatsen op het biotisch

ligand die bezet zijn met het metaal ($f_{\mathrm{MeBL}}^{\mathrm{NOEC}}$), berekend op het 'no-effect' niveau. Volgens het BLM concept is deze fractie hetzelfde voor elke toxiciteitstest voor een bepaald metaal, soort en effectniveau ongeacht de eigenschappen van het water waarin de toxiciteit is gemeten. De $f_{\mathrm{MeBL}}^{\mathrm{NOEC}}$ per gegeven NOEC, wordt vervolgens gebruikt om de watertype specifieke NOEC uit te rekenen. Verdere uitleg van deze berekening en afleiding van de gehanteerde formules wordt gegeven in Appendix B; 'mathematische beschrijving van het biotic ligand model'. De praktische implementatie van de BLMs, berekening van de $f_{\mathrm{MeBL}}^{\mathrm{NOEC}}$ en berekening van watertype specifieke NOECs is gedaan in een specifiek voor dit onderzoek ontwikkeld computerprogramma. Invoer parameters zijn de berekende ion-activiteiten voor de diverse watertypen en de berekende ion-activiteiten voor elke toxiciteitstest. Uitvoer zijn de watertype specifieke NOECs op basis van de activiteit van het metaal-ion.

De NOECs die nu berekend zijn op basis van metaalactiviteit worden vervolgens met behulp van WHAM VI weer teruggerekend naar totaal opgelost metaal met in achtneming van de specifieke watereigenschappen voor elk watertype. Deze laatste stap is noodzakelijk om watertype specifieke frequentie curven makkelijk te kunnen vergelijken met frequentie curven op basis van totaal metaalconcentratie waarbij geen rekening is gehouden met de biobeschikbaarheid.



Figuur 2: Opeenvolgende berekeningsstappen noodzakelijk om de watertype specifieke soortgevoeligheids verdelingscurven te berekenen. Speciatie berekeningen (omrekening van de totaal opgeloste concentratie naar activiteit van de metalen en vice versa) worden verricht met WHAM VI. Het omrekenen van de NOECs naar watertype specifieke omstandigheden wordt gedaan met de BLMs. $f_{\mathrm{MeBL}}^{\mathrm{NOEC}}$ is de fractie bindingsplaatsen op het biotisch ligand die bezet zijn met het metaal op het 'no-effect' niveau en is de centrale parameter in de omrekeningsstap.

Vervolgens wordt de potentieel aangetaste fractie (PAF) geschat op basis van deze waterspecifieke toxiciteitgegevens met behulp van E_TX 2.0, het door het RIVM ontwikkelde softwarepakket voor het berekenen van risiconiveaus (Van Vlaardingen *et al.*, 2004). E_TX implementeert de theorie zoals beschreven in Aldenberg & Jaworska (2000). Het statistische model dat gebruikt wordt om de soortgevoeligheids verdelingscurven te beschrijven is de lognormale verdeling.

Met behulp van de gefitte curve kan de waterspecifieke PAF uitgerekend worden en/of kan een effectniveau worden geschat. Hiermee kan een watertype specifieke effectanalyse gemaakt worden.

Een belangrijk punt bij het toepassen van de BLMs is het gebruik van de BLMs voor andere soorten dan waar ze oorspronkelijk voor ontwikkeld zijn. De BLMs zijn afgeleid en gevalideerd voor een beperkt aantal soorten. Zo is er een BLM dat ontwikkeld is voor de watervlo *Daphnia magna*. Een *Daphnia magna* model mag niet zonder meer gebruikt worden voor een *Daphnia pulex*. Om te toetsen of een BLM ontwikkeld voor een specifieke soort ook gebruikt kan worden voor een nauw verwante soort, zijn er in enkele gevallen ook BLMs ontwikkeld voor andere watervlooien dan de *Daphnia magna*. Vergelijking van de gevonden BLM constanten voor de verschillende daphnia soorten liet zien dat de bindingsconstanten op het biotisch ligand voor metalen nauwelijks verschilden tussen de organismen (EU, 2005). Dit toont aan dat dergelijke soorten beschreven kunnen worden met een BLM ontwikkeld voor een verwante soort.

De NOECs kunnen op verschillende manieren gebruikt worden om de frequentie curve op te stellen (Suter II *et al.*, 2002), namelijk, op gemiddelde NOECs of juist op de meest gevoelige NOECs. Ook is er de keuze welke taxonomische groepen worden meegenomen in het opstellen van de frequentie-curve. In dit onderzoek zullen alle NOECs gemeten voor één soort individueel gebruikt worden in de frequentie-curve en zullen alle beschikbare soorten gebruikt worden voor het opstellen van één frequentie-curve. De ecologische relevantie van de gefitte cumulatieve frequentie verdeling zal daarmee gering zijn. Er kan een bias ontstaan omdat er toevallig heel veel metingen zijn aan de minst gevoelige soort. Bovendien zijn bij het opstellen van de frequentie-curven in dit rapport slechts twee of drie individuele soorten zijn opgenomen. Wel zijn de frequentie-curven geschikt voor het zichtbaar maken van de invloed van het toepassen van het BLM-raamwerk per type water.

Een minimum van 3 tot 8 NOECs is noodzakelijk om een frequentie-curve te kunnen fitten (Suter II *et al.*, 2002). Vanuit statistisch oogpunt zijn de frequentie-curven in deze studie dan ook goed te schatten. De gebruikte NOECs zijn veelal overgenomen uit de RAR documenten waarin ze zijn gescreend op kwaliteit.

4 Resultaten

4.1 Inventarisatie 'Biotic Ligand Models'

4.1.1 Overzicht alle modellen

Al eerder zijn er overzichten gepubliceerd van bestaande BLMs of bindingsconstanten van metalen op biotische liganden. Panquin *et al*. (2002) geeft een historisch overzicht van de ontwikkeling van BLMs. Door Slaveykova & Wilkinson (2005) is een overzicht gegeven van bekende bindingsconstanten op het biotisch ligand.

De inventarisatie die hier gepresenteerd wordt, heeft specifiek betrekking op de BLMs die de acute en chronische toxiciteit van Cu, Zn en Cd beschrijven en operationeel zijn. Tevens bevat deze inventarisatie zeer recent ontwikkelde BLMs, die nog niet (september 2005) gepubliceerd zijn in openbare literatuur. De verschillen in acute en chronische BLMs worden bediscussieerd. In de navolgende paragrafen zullen de voor chronische toxiciteit ontwikkelde BLMs van Cu, Zn en Cd in meer detail besproken worden waarbij ook gerefereerd zal worden aan de acute modellen indien noodzakelijk. De behandelde chronische BLMs zijn over het algemeen ook de BLMs die gebruikt (gaan) worden in de Europese risicobeoordeling van deze drie metalen.

De BLMs voor de verschillende metalen worden in de navolgende paragrafen elk afzonderlijk besproken. Hierbij wordt eerst de anorganische speciatie en de binding aan de opgeloste fractie organische stof besproken waarna de BLMs voor respectievelijk algen, watervlooien en vissen worden besproken.

4.1.2 Koper

<u>BLMs in het koper RAR</u>

In het concept RAR document voor koper (EU, 2005) worden BLMs voor acute en chronische toxiciteit besproken, die van toepassing zijn op zoetwater watervlooien en vissen. Deze chronische BLMs zijn in deze studie overgenomen. Een BLM voor algen is nog niet opgenomen in het RAR document alhoewel dit wel wordt voorzien. Verder blijkt er nog geen volledig BLM ontwikkeld te zijn voor algen. In dit geval wordt gebruik gemaakt van de 'eenvoudige' relaties tussen waterkwaliteit en gemeten toxiciteit, welke zijn overgenomen uit de wetenschappelijke literatuur (De Schamphelaere *et al.*, 2003; De Schamphelaere *et al.*, 2005a).

<u>Anorganische koper speciatie</u>

In Tabel 1 staan de complexatie reacties van koper, die gebruikt worden om de speciatie van koper in het oppervlaktewater te berekenen. De evenwichtsconstanten zijn overgenomen van de NIST database (Martell *et al.*, 1997)en zijn dezelfde evenwichtsconstanten zoals gehanteerd in het Cu-RAR.

Tabel 1: Anorganische koper species in oplossing, meegenomen in de chronische Cu-BLMs.

koper complexatie reactie	Evenwichtsconstante [a]
$Cu^{2+} + OH^- \rightarrow CuOH^+$	log K = 6.48
$Cu^{2+} + 2OH^- \rightarrow CuOH_2$	log K = 11.81
$Cu^{2+} + H^+ + CO_3^{2-} \rightarrow CuHCO_3^+$	log K = 12.13
$Cu^{2+} + CO_3^{2-} \rightarrow CuCO_3$	log K = 6.77
$Cu^{2+} + 2CO_3^{2-} \rightarrow Cu(CO_3)_2^{2-}$	log K = 10.2
$Cu^{2+} + Cl^- \rightarrow CuCl^+$	log K = 0.2
$Cu^{2+} + SO_4^{2-} \rightarrow CuSO_4$	log K = 2.36

[a] evenwichtsconstanten overgenomen van de NIST database (Martell *et al*., 1997).

Koper binding aan opgeloste organische stof

Naast de anorganische complexatiereacties van koper, zijn ook enkele complexatiereacties van de macro-ionen, zoals Mg en Ca, van belang voor het berekenen van de speciatie in oppervlaktewater. De complexatiereacties van deze macro-ionen, welke in alle BLMs gelijk zijn, staan vermeld in Appendix A.

In zijn algemeenheid wordt bij de hierna te bespreken koper BLMs, bij de afleiding van de BLM parameters, gebruik gemaakt van WHAM V (Tipping, 1994) voor de berekening van de binding van koper aan DOC. In deze studie zal gebruik gemaakt worden van een nieuwere versie van het programma, namelijk versie VI (Tipping, 1998). WHAM VI geeft een betere beschrijving van de binding van koper aan DOC bij zeer lage koperconcentraties (Bryan *et al*., 2002). Deze zeer lage concentraties zijn het meest relevant voor de beschrijving van de koperbinding in het natuurlijk milieu want zelfs in verontreinigd water hebben we te maken met lage koperconcentraties.

Het organisch stof model dat in WHAM V en VI is opgenomen, is geënt op een standaard organische stof (een fulvozuur) dat weliswaar grote overeenkomsten heeft met opgelost organische stof in oppervlaktewateren, maar een hogere metaalcomplexatie capaciteit kent. Het is daarom noodzakelijk om de WHAM modelvoorspellingen te kalibreren op de metaalcomplexatie capaciteit van organische stof zoals aangetroffen in oppervlaktewateren. Dit doet men door het model organische stof voor slechts een deel als actief te beschouwen. Ook voor de voorspelling van de koperbinding aan natuurlijk opgeloste organische stof in oppervlaktewateren is dit gedaan en hieruit bleek dat de meest optimale voorspelling werd gedaan door aan te nemen dat 68% van de organische stof actief is.

BLM algen chronisch

Een volledig uitgewerkt BLM voor de chronische toxiciteit van koper op algen is nog in ontwikkeling (De Schamphelaere *et al.*, 2005a). Er zijn nog geen bindingsconstanten voor koper op de relevante liganden van algen bekend. Wel zijn er

relaties tussen de vrije koperconcentratie, pH en chronische toxiciteit van koper op algen afgeleid (De Schamphelaere *et al.*, 2003), waarmee een semi-mechanistisch model opgesteld is, zie Tabel 2.

Tabel 2: Overzicht van BLM constanten voor beschrijving van de chronische toxiciteit van koper op algen (*Pseudokirchneriella subcapitata*).

Biotic ligand model parameters [a]	
$\log(E_bC_{50})_{Cu^{2+}} = -1.431 \times pH + 2.050$	
$\log(E_bC_{10})_{Cu^{2+}} = -.1.140 \times pH - 0.812$	
DOC model [b]	
WHAM VI	
percentage actief DOC [c]	68%
anorganische speciatie [d]	
$CuOH^+$	log K = 6.48
$CuOH_2$	log K = 11.81
$CuHCO_3^+$	log K = 12.13
$CuCO_3$	log K = 6.77
$Cu(CO_3)_2^{2-}$	log K = 10.2
$CuCl^+$	log K = 0.2
$CuSO_4$	log K = 2.36
Toepasbaarheid	
Watereigenschappen	pH: 5.5 – 8.5 hardheid: 10 – 500 mg $CaCO_3.L^{-1}$ alkaliniteit: 0.10 – 453 mg $CaCO_3.L^{-1}$
Organisme	*Pseudokirchneriella subcapitata* en andere algen.
Eindpunten	EC_{10}, EC_{50}
Verificatie [e]	Ja

[a] Volgens De Schamphelaere *et al.*, 2003.

[b] Volgens Tipping, 1998

[c] Volgens Bryan *et al.*, 2002

[d] Evenwichtsconstanten overgenomen uit de NIST database (Martell *et al.*, 1997)

[e] Zie De Schamphelaere *et al.*, 2003

Het semi-mechanistische algen model is afgeleid met behulp van toxiciteitstesten met artificieel water, waarin de opgeloste organische stof concentratie gevarieerd is. De opgeloste organische stof was afkomstig uit natuurlijk oppervlaktewater en is na bewerking gebruikt in de experimenten. In deze toxiciteitsproeven wordt de speciatie van koper zeer sterk beïnvloed door de binding van koper aan de opgeloste organische stof.

Het model is gevalideerd op een onafhankelijke set van NOEC en EC_{50} data gemeten in natuurlijke wateren (De Schamphelaere *et al.*, 2003). In de meeste gevallen (81%) werd de toxiciteit tot op een factor twee goed voorspeld. In de gevallen waarin de fout groter was, werden de wateren gekarakteriseerd door lage pH (<6) en hoge Al- en Fe-concentraties (De Schamphelaere *et al.*, 2003).

BLM watervlooien acuut

De BLM ontwikkeld voor de acute toxiciteit van koper op de watervlo (*Daphnia magna*) wordt deels gegeven in het Cu-RAR (EU, 2005). De initiële ontwikkeling van dit BLM is beschreven in De Schamphelaere & Janssen (2002). Verfijning van dit BLM – o.a. inclusie van een BL-$CuCO_3$ species – is beschreven in De Schamphelaere *et al.* (2002). Data gepresenteerd in deze beide wetenschappelijke artikelen zijn essentieel voor een volledige beschrijving van dit BLM, zie Tabel 3.

Het acute *Daphnia magna* model van De Schamphelaere *et al*., (2002) is gebruikt om de acute toxiciteit van koper op verschillende soorten watervlooien (*Daphnia magna*, *Daphnia obtusa* en *Daphnia pulex*) te voorspellen in een aantal Chileense oppervlaktewateren (Villavicencio *et al.*, 2005). De modelvoorspellingen bleken goed te kloppen met de gemeten acute toxiciteit. Dit toont aan dat het bovenstaande model toepasbaar is op meerdere typen watervlooien.

Santore *et al.* (2001) had reeds in 2001 het acute BLM voor de beschrijving van de koper toxiciteit op vissen toegepast op *Daphnia pulex*, met als enige verandering de BLM-parameter die de kritische accumulatie van koper op het biotisch ligand beschrijft. Deze constanten zijn vermeld in Tabel 3. Sindsdien is dit model verfijnd door aan te nemen dat ook het $CuOH^+$ species beschikbaar is (EPA, 2003).

Tabel 3: Overzicht van BLM constanten voor beschrijving van de acute toxiciteit van koper op watervlooien (*Daphnia magna*) door De Schamphelaere *et al.* (2002), Santore *et al.* (2001) en EPA (2003).

Biotic ligand specie	biotic ligand constant (log *K*)		
	De Schamphelaere *et al.*, 2002 (EU)	Santore *et al.*, 2001 (USA)	EPA, 2003 (USA)
CuBL	8.02	7.4 [a]	7.4 [a]
CuOHBL	7.32 [b]	-	6.2 [b]
$CuCO_3$BL	7.01 [b]	-	-
HBL	5.40	5.4 [a]	5.4 [a]
CaBL	3.47	3.6	3.6
MgBL	3.58	-	-
NaBL	3.19	3.0	3.0

[a] overgenomen uit Playe *et al.*, 1993.

[b] reactie gedefinieerd als $K_{XBL} = (XBL)/((BL)\cdot(X))$

BLM watervlooien chronisch

De beschrijving van de chronische toxiciteit van koper op watervlooien met een BLM is onderzocht door De Schamphelaere & Janssen (2004b). De chronische toxiciteit was onderzocht in 35 test media waarin opgeschoond DOC is toegevoegd. Het DOC was afkomstig uit drie verschillende natuurlijke wateren (De Schamphelaere & Janssen, 2004a).

Als toxiciteitsindicator is de reproductiviteit na 21 dagen gebruikt, uitgedrukt als EC_{50} en NOEC. De gevonden BLM constanten zijn vermeld in Tabel 4. Dit BLM is geverifieerd door de chronische toxiciteit van koper in een onafhankelijke dataset van natuurlijke wateren te voorspellen (De Schamphelaere & Janssen, 2004b). De gemeten NOEC- en EC_{50}-waarden konden in de meeste gevallen tot op een factor twee goed voorspeld worden. In enkele gevallen werden de NOEC en EC_{50} een factor acht overschat. Deze grote overschatting had betrekking op wateren met een lage pH (pH 5.5) en hoge Al en Fe concentraties in oplossing, die de Cu-DOC complexatie beïnvloed kunnen hebben (De Schamphelaere & Janssen, 2004b)

Het grote verschil tussen het chronische en acute BLM is het ontbreken van parameters die de competitie van calcium en magnesium op het biotisch ligand beschrijven. De invloed van calcium en magnesium op de chronische toxiciteit van koper op watervlooien bleek niet significant. Hieruit blijkt dat het mechanisme van de acute kopertoxiciteit en chronische toxiciteit verschillend is. De implicaties van deze bevinding zijn belangrijk. Ten eerste mogen in z'n algemeenheid de BLM-constanten ontwikkeld voor acute effecten dus niet gebruikt worden voor het voorspellen van chronische effecten. Ten tweede lijkt de nu reeds bestaande 'hardness correction', voor het vaststellen van kopernormen in oppervlaktewater in Amerika, niet voor alle organismen correct te zijn (Markich *et al.*, 2005).

Tabel 4: Overzicht van BLM constanten voor beschrijving van de chronische toxiciteit van koper op watervlooien (*Daphnia magna*).

Biotic Ligand model parameters	
CuBL	log K = 8.02
CuOHBL	log K = 8.02
$CuCO_3BL$	log K = 7.44
HBL	log K = 6.67
NaBL	log K = 2.91
f_{CuBL}^{NOEC}	0.260 ± 0.077
DOC model	
WHAM VI (Tipping, 1998)	
percentage actief DOC	68%
anorganische speciatie [a]	
$CuOH^+$	log K = 6.48
$CuOH_2$	log K = 11.81
$CuHCO_3^+$	log K = 12.13
$CuCO_3$	log K = 6.77
$Cu(CO_3)_2^{2-}$	log K = 10.2
$CuCl^+$	log K = 0.2
$CuSO_4$	log K = 2.36
Toepasbaarheid	
Watereigenschappen	pH: 5.62 – 8.42 hardheid: 25 – 501 mg $CaCO_3.L^{-1}$ alkaliniteit: 0.01 – 339 mg $CaCO_3.L^{-1}$
Organisme	*Daphnia magna*
Eindpunten	reproductiviteit na 21 dagen uitgedrukt als EC_{50} en NOEC.
Verificatie	Ja

[a] Evenwichtsconstanten afkomstig van Martell *et al.* 1997.

BLM vissen acuut

De beschrijving van de acute toxiciteit van koper op vissen is één van de eerste toepassingen van BLMs. In 1993 is door Playe *et al.* (1993) reeds de bindingssterkte van koper op de kieuwen van vissen bepaald. Santore *et al* (2001)[3] heeft de gegevens van Playe *et al.* gebruikt voor het opstellen van een acuut koper BLM, dat de basis vormt van het acute koper BLM voor watervlooien. De BLM parameters staan in Tabel 5. Dit eerste acute koper BLM is vervolgens verfijnd door aan te nemen dat

[3] Een eerste versie van deze publicatie is verschenen in een rapport gepubliceerd door de International Copper Association (Di Toro *et al*., 2000).

naast het Cu^{2+} species eveneens het $CuOH^{+}$ species biobeschikbaar is. Dit acute BLM is gebruikt voor het afleiden van de locatiespecifieke kopernormering in de USA (EPA, 2003).

Tabel 5: Overzicht van verschillende BLMs voor de beschrijving van de acute toxiciteit van koper op vissen (*Pimephales promelas*).

Biotic ligand species	Biotic ligand constant (log *K*)		
	Santore *et al.*, 2001 (USA)	EPA, 2003 (USA)	EU, 2005a (EU)
CuBL	7.4 [a]	7.4	7.4
CuOHBL	-	6.2	6.2
HBL	5.4 [a]	5.4	5.4
CaBL	3.6	3.6	3.6
NaBL	3.0	3.0	3.0

[a] overgenomen uit Playe *et al.*, 1993.

BLM vissen chronisch

Er is vooralsnog geen onafhankelijk BLM ontwikkeld dat chronische effecten van koper op vissen beschrijft. Zoals uitgelegd in het Cu-RAR (EU, 2005) zijn twee acute en één chronisch BLM voor watervlooien getest op toxiciteitgegevens van vissen (*Oncorhynchus mykiss & Pimephales promelas).* Hieruit bleek dat het verfijnde acute BLM voor watervlooien, zoals beschreven door De Schamphelaere *et al*. (2002) de beste beschrijving van de toxiciteit van koper op vissen gaf als functie van de watereigenschappen. In de meeste gevallen kon het BLM de toxiciteit van koper tot op een factor twee goed voorspellen. Om deze reden is het model destijds gekozen als chronisch BLM voor vissen (EU, 2005). Het chronische vis BLM is gegeven in Tabel 6 en was al verkort weergegeven in Tabel 3.

Tabel 6: Overzicht van BLM constanten voor beschrijving van de chronische toxiciteit van koper op vissen (*Oncorhynchus mykiss & Pimephales promelas*). Dit model is gelijk aan het BLM dat de acute effecten van koper op Daphnia magna beschrijft zoals gepubliceerd door De Schamphelaere *et al.*, 2002 en verkort weergeven in Tabel 3.

Biotic Ligand model parameters	
CuBL	log K = 8.02
CuOHBL	log K = 7.32
$CuCO_3BL$	log K = 7.01
HBL	log K = 5.40
CaBL	log K = 3.47
MgBL	log K = 3.58
NaBL	log K = 3.19
f_{CuBL}^{NOEC}	not known
DOC model	
WHAM VI (Tipping, 1998)	
percentage actief DOC	68%
anorganische speciatie [a]	
$CuOH^+$	log K = 6.48
$CuOH_2$	log K = 11.81
$CuHCO_3^+$	log K = 12.13
$CuCO_3$	log K = 6.77
$Cu(CO_3)_2^{2-}$	log K = 10.2
$CuCl^+$	log K = 0.2
$CuSO_4$	log K = 2.36
Toepasbaarheid	
Watereigenschappen [b]	pH: 6.0 – 8.8 hardheid: 30 – 360 mg $CaCO_3.L^{-1}$ alkaliniteit: 17 – 318 mg $CaCO_3.L^-$
Organisme	*Oncorhynchus mykiss & Pimephales promelas*
Eindpunten	10/30 dagen groeisnelheid uitgedrukt als EC_x waarde voor *O. mykiss* en groeisnelheid uitgedrukt als EC_{60} waarde voor *P. promelas*
Verificatie	Ja [c]

[a] Evenwichtsconstanten afkomstig van Martell *et al.*, 1997.

[b] uit Waiwood & Beamish, 1987 en Erickson *et al.*, 1996.

[c] Model is ontwikkeld voor watervlooien en bleek een redelijke beschrijving van de chronische effecten van koper op vissen te geven. De dataset waarop het model is getest was niet bijzonder groot.

Het is opvallend dat juist het acute watervlooien BLM een betere beschrijving geeft van de chronische toxiciteit van koper op vissen dan het chronische watervlooien BLM. Het chronische watervlooien BLM verdisconteert niet de invloed van de hardheid van water, het acute model doet dat wel. De invloed van de pH op de toxiciteit van koper is groter voor watervlooien dan voor vissen. De betrouwbaarheid van de voorspelling is getoetst op een beperkt aantal toxiciteitsdata voor vissen.

4.1.3 Zink

BLMs in het zink RAR

Voor het inventariseren van zink-BLMs is het concept Zn-RAR geraadpleegd (EU, 2004). Deze BLMs beschrijven de chronische toxiciteit op algen, watervlooien en vissen. Deze komen overeen met de modellen zoals opgenomen in De Schamphelaere *et al* (2005b). Deze BLMs zullen gebruikt worden in dit onderzoek en worden in de hierna volgende paragrafen uitgebreid besproken.

Anorganische zink speciatie

De anorganische zink species die in alle Zn-BLMs worden meegenomen (De Schamphelaere *et al.*, 2005b), staan gegeven in Tabel 7.

Tabel 7: Anorganische zink species in oplossing, meegenomen in de chronische Zn-BLMs.

zink specie formatie reactie	Evenwichtsconstante [a]
$Zn^{2+} + OH^- \rightarrow ZnOH$	log K = 5.00
$Zn^{2+} + 2OH^- \rightarrow Zn(OH)_2$	log K = 10.2
$Zn^{2+} + H^+ + CO_3^{2-} \rightarrow ZnHCO_3^+$	log K = 11.83
$Zn^{2+} + CO_3^{2-} \rightarrow ZnCO_3$	log K = 4.76
$Zn^{2+} + SO_4^{2-} \rightarrow ZnSO_4$	log K = 2.34
$Zn^{2+} + Cl^- \rightarrow ZnCl^+$	log K = 0.4

[a] Evenwichtsconstanten afkomstig van Martell *et al.*, 1997.

De evenwichtsconstanten zijn overgenomen uit de NIST database (Martell *et al* 1997).

Zink binding aan opgeloste organische stof

De beschrijving van de binding van zink aan opgeloste organische stof geïsoleerd uit natuurlijk oppervlaktewater is onderzocht door Cheng *et al.* (2005). Modellering van de zinkbinding is verricht met WHAM V en WHAM VI. De beschrijving van de binding van zink met behulp van WHAM is geoptimaliseerd door - net zoals voor koper - de actieve fractie opgelost organisch materiaal te wijzigen. Daarnaast is, in tegenstelling tot Cu-DOC binding, de standaard bindingsconstante voor zink met DOC in WHAM V en VI gewijzigd. Als de standaard bindingsconstante van log K =

1.6 zou worden gehanteerd, dan zou moeten worden aangenomen dat de zinkbindingscapaciteit van natuurlijk opgelost organisch materiaal zeer veel hoger is dan die van puur fulvozuur, wat zeer onwaarschijnlijk is. De aangepaste zinkbindingsconstante is log K = 1.8. Gebruikmakend van deze bindingsconstante is het optimale percentage actief DOC bepaald op 51% actief DOC. Er was geen significant verschil in kwaliteit tussen de voorspellingen gemaakt met WHAM V en WHAM VI gebruikmakend van optimale bindingsconstante en bindingscapaciteit. In deze studie wordt WHAM VI met optimale parameters volgens Cheng *et al.* (2005) gebruikt, zie Tabel 8.

Tabel 8: Optimale parameters voor de beschrijving van zink binding aan opgeloste organische stof in oppervlaktewateren met behulp van WHAM VI (Cheng *et al*., 2005).

Parameter	waarde
log $K_{Zn\text{-}Fa}$	1.8
Percentage actief DOC	51%

BLM algen chronisch

De beschrijving van de chronische toxiciteit van zink op algen met behulp van een BLM is als eerste onderzocht door Heijerinck *et al.* (2002a). De toxiciteit van Zn bleek sterk beïnvloed te worden door de H^+-concentratie, met een sterk niet lineair effect. In eerste instantie is door Heijerick *et al.* een BLM model opgezet waarbij alleen binding van Zn aan het biotisch ligand en de competitie met H^+ een rol speelden. Het niet lineaire effect werd beschreven als een pH afhankelijke $K_{BL\text{-}Zn}$ constante. Het mechanisme achter het niet lineaire H^+ effect is echter nauwelijks bekend. In tweede instantie stelt De Schamphelaere *et al* (2005b) een relatie op, waarbij de chronische toxiciteit van Zn als functie van de pH is beschreven. De beschermende effecten van Ca^{2+}, Mg^{2+} en Na^+ zijn relatief klein t.o.v. het effect van de pH, en zijn daarom niet meegenomen.

De relatie tussen de pH en de chronische toxiciteit van Zn op algen is onderzocht in natuurlijk water met een significante hoeveelheid natuurlijke opgeloste organische stof. Het onderzochte effect was de groeisnelheid na 72 uur (De Schamphelaere *et al*., 2005b).

Tabel 9: Overzicht van de BLM constanten voor de beschrijving van de chronisch toxiciteit van zink op algen (*Pseudokirchneriella subcapitata*).

Biotic Ligand model parameters [a]	
$\log(72\text{h EC}_{10})_{Zn^{2+}} = -0.754 \times \text{pH} - 1.294$	
$\log(72\text{h EC}_{50})_{Zn^{2+}} = -0.652 \times \text{pH} - 1.1971$	
DOC model [b]	
WHAM VI (Tipping, 1998)	
DOC-Zn^{2+}	log K = 1.8
Percentage actief DOC	51%
anorganische speciatie [c]	
$ZnOH^+$	log K = 5.00
$Zn(OH)_2$	log K = 10.2
$ZnHCO_3^{+c}$	log K = 11.83
$ZnCO_3$	log K = 4.76
$ZnSO_4$	log K = 2.34
$ZnCl^+$	log K = 0.4
Toepasbaarheid	
Watereigenschappen	pH: 5.7 – 8.0
Eindpunten	groeisnelheid na 72h uitgedrukt als EC_{50}, en EC_{10} waarde
Verificatie	Nee [d]

[a] Biotisch ligand model volgens De Schamphelaere *et al* (2005b)

[b] DOC model volgens Cheng *et al.* (2005)

[c] Evenwichtsconstanten afkomstig van Martell *et al* 1997.

[d] Voor zover bekend is dit model niet getest op een onafhankelijke set van toxiciteitsgegevens. De toxiciteitsdata waarop het model was afgeleid konden wel goed beschreven worden met dit model, maar deze beschrijving geldt niet als onafhankelijke test van het model.

Het model voor algen is toepasbaar in een pH range van 5.7 - 8.0 (De Schamphelaere *et al*., 2005b). Het effectmodel voor zink op algen is het enige model toegepast in deze studie, dat niet is getest op onafhankelijke toxiciteitsgegevens.

BLM watervlooien chronisch

De parameterisering van een BLM dat de chronische toxiciteit van zink op watervlooien (*Daphnia magna*) beschrijft, is onderzocht door Heijerick *et al.* (2005), zie Tabel 10. De zink toxiciteit is onderzocht in 21 dagen reproductie testen waarbij de toxiciteit is uitgedrukt als de EC_{50} en NOEC waarde. Dit chronisch Zn BLM voor watervlooien is getest op een onafhankelijke set van toxiciteitsdata, zie De Schamphelaere *et al.* (2005b).

Tabel 10: Overzicht van de BLM constanten voor de beschrijving van de chronisch toxiciteit van zink op watervlooien (*Daphnia magna*).

Biotic Ligand model parameters [b]	
ZnBL	log K = 5.31
CaBL	log K = 3.22
MgBL	log K = 2.69
NaBL	log K = 1.90
HBL	log K = 5.77
f_{ZnBL}^{NOEC}	0.084
DOC model [c]	
WHAM VI (Tipping, 1998)	
DOC-Zn^{2+}	log K = 1.8
Percentage actief DOC	51%
anorganische speciatie [a]	
$ZnOH^+$	log K = 5.00
$Zn(OH)_2$	log K = 10.2
$ZnHCO_3^+$	log K = 11.83
$ZnCO_3$	log K = 4.76
$ZnSO_4$	log K = 2.34
$ZnCl^+$	log K = 0.4
Toepasbaarheid	
Watereigenschappen	pH: 6 – 8.0 Calcium : 50 – 160 mg $Ca.L^{-1}$
Organisme	*Daphnia magna*
Eindpunt	reproductiviteit na 21 dagen uitgedrukt als EC_{50} of NOEC
Verificatie	Ja

[a] Evenwichtsconstanten afkomstig van Martell *et al.*, 1997.

[b] BLM constanten afkomstig uit Heijerick *et al.*, 2005.

[c] binding van zink aan DOC zoals overgenomen uit Cheng *et al.*, 2005.

Uit de verificatie komt naar voren dat het *Daphnia magna* model minder goede voorspellingen geeft bij pH > 8 (De Schamphelaere *et al.*, 2005b). De range van calciumconcentraties waarin het model toepasbaar is 50 – 160 $mg.L^{-1}$ (De Schamphelaere *et al.*, 2005b).

BLM watervlooien acuut

Al eerder was door Heijerick *et al.* (2002b) en Santore *et al.* (2002) een beschrijving gegeven van de acute toxiciteit van zink op watervlooien met een BLM, zie Tabel 11.

Tabel 11: Kort overzicht van BLM constanten voor beschrijving van de acute toxiciteit van zink op watervlooien (*Daphnia magna*).

Biotic ligand specie	biotic ligand constant (log *K*)	
	Heijerick *et al.*, 2002b (EU)	Santore *et al.*, 2002 (USA)
ZnBL	5.31	5.5 [a]
CaBL	3.34	4.8 [b]
MgBL	3.12	-
NaBL	2.37	-
HBL	-	6.7 [b]

[a] constante afkomstig uit Alsop & Wood (2000).

[b] constante afkomstig uit Playe *et al*. (1993) en kalibratie door Santore *et al.* (2002).

In het chronische model blijkt H^+ competitie van belang, anders dan in het acute model van Heijerick *et al* (2002b). Hierbij moet worden aangetekend dat het pH effect niet erg goed begrepen is. Ondanks dat het pH effect niet goed begrepen is, wordt het verschil toegeschreven aan pH geïnduceerde veranderingen van de celmembranen in de chronische testen welke de gevoeligheid voor metalen bij hoge pH vergroten (Heijerick *et al.*, 2005).

Het acute Zn-BLM ontwikkeld door Santore *et al.* (2002) wijkt op meerdere punten af van het acute model van Heijerick *et al*. (2002b). Dit wordt veroorzaakt door een verschil in de methodiek om de BLM parameters af te leiden. Heijerick *et al*. volgen de methodiek van De Schamphelaere & Janssen (2002), waarbij d.m.v. multivariate data analyse de BLM parameters worden afgeleid. Santore *et al* nemen aan dat de binding van zink en cadmium op dezelfde liganden plaatsvindt. Daarom is er door Santore *et al.* zoveel mogelijk consistentie betracht tussen het eerder ontwikkelde Cd-BLM (Playe *et al.*, 1993) en het Zn-BLM. Vandaar dat in het acuut Zn-BLM de bindingsconstante van Ca en H vergelijkbaar zijn met die van het Cd-BLM. De bindingsconstante voor zink is overgenomen uit een studie waarbij de binding van zink op de kieuwen van vissen is onderzocht (Alsop & Wood, 2000). Zowel Heijerick *et al*. als Santore *et al.* claimen dat hun model een redelijke voorspellende waarde heeft.

<u>BLM vissen chronisch</u>

Een beschrijving van de chronische effecten van zink op vissen (*Oncorhynchus mykiss*) met behulp van een BLM is gegeven door De Schamphelaere & Janssen (2004c). In de toxiciteitstesten is de overleving na 30 dagen als eindpunt gebruikt en uitgedrukt als LC_{50}, LC_{10}, NOEC en LOEC. De letaliteit bleek het meest gevoelige eindpunt. Binding van zink aan DOC in deze toxiciteittesten is verwaarloosbaar.

Verificatie van het model op een onafhankelijke dataset is beschreven in De Schamphelaere *et al.* (2005b). Hierbij is de gemeten toxiciteit (overleving na 30

dagen, uitgedrukt als LC_{50}, LC_{10} en NOEC) in enkele natuurlijke oppervlaktewateren vergeleken met de BLM voorspellingen. De voorspellingen bleken voor de meeste wateren binnen een factor twee van de gemeten waarden te zitten.

Tabel 12: Overzicht van de BLM constanten voor de beschrijving van de chronisch toxiciteit van zink op vissen (*Oncorhynchus mykiss*).

Biotic Ligand model parameters [e]	
ZnBL	log K = 5.5 [a]
CaBL	log K = 3.6
MgBL	log K = 3.1
NaBL	log K = 2.4
HBL	log K = 6.3
$f_{ZnBL}^{10\%}$ [f]	0.093
DOC model [c]	
WHAM VI (Tipping, 1998)	
DOC-Zn^{2+}	log K = 1.8
Percentage actief DOC	51%
anorganische speciatie [b]	
$ZnOH^+$	log K = 5.00
$Zn(OH)_2$	log K = 10.2
$ZnHCO_3^+$	log K = 11.83
$ZnCO_3$	log K = 4.76
$ZnSO_4$	log K = 2.34
$ZnCl^+$	log K = 0.4
Toepasbaarheid	
Watereigenschappen	pH: 6.0 – 8.0 calcium: 7 – 160 mg $.L^{-1}$
Organisme	*Oncorhynchus mykiss*
Eindpunt	30 d survival uitgedrukt als LC_{50}, LC_{10} LOEC en NOEC
Verificatie	Ja [d]

[a] Overeenkomstig de Zn bindingsconstante zoals gegeven in Santore *et al.* (2002) en gemeten door Alsop & Wood (2000).

[b] Evenwichtsconstanten afkomstig uit Martell *et al*., 1997.

[c] Zn-DOC model afkomstig uit Cheng *et al.*, 2005.

[d] zie De Schamphelaere *et al.*, 2005b.

[e] Evenwichtsconstanten gepubliceerd in De Schamphelaere & Janssen (2004c).

[f] f_{ZnBL}^{NOEC} is niet gegeven in De Schamphelaere & Janssen, (2004c). Verondersteld is dat $f_{ZnBL}^{10\%}$ gelijk is aan f_{ZnBL}^{NOEC}.

Geconcludeerd kan worden dat voor algen het effect van de pH het belangrijkst is, en de effecten van Ca, Mg en Na niet significant zijn. Voor watervlooien zijn de waterhardheid (calcium concentratie) en pH beide van belang, terwijl voor vissen het effect van calcium dominanter is dan het pH effect. Calcium is naast de pH van het medium zo belangrijk voor de chronische toxiciteit van zink op watervlooien en vissen, omdat zink waarschijnlijk getransporteerd wordt door de calcium kanalen van het biotisch membraan. Het niet-lineaire effect van de H^+-concentratie op de chronische zinktoxiciteit is niet goed te verklaren.

Alle chronische Zn-BLMs zijn toepasbaar in wateren met een pH range van ongeveer 6 tot 8 en een calcium concentratie van 5 tot 160 $mg.L^{-1}$.

4.1.4 Cadmium

In het RAR document (EU, 2003) van cadmium metaal en cadmium oxide wordt geen gebruik gemaakt van BLMs om de invloed van biobeschikbaarheid op de toxiciteit van cadmium te verdisconteren. Er wordt geen rekening gehouden met de speciatie van cadmium in het oppervlaktewater. Wel wordt de effectconcentratie uitgedrukt in totaal opgelost cadmium gecorrigeerd voor de hardheid van het water.

Volgens het RAR document is deze benadering mogelijk omdat "gezien de veel grotere onzekerheid in het bepalen van de toxiciteit, geconcludeerd mag worden dat het buiten beschouwing laten van de speciatie van cadmium niet leidt tot grote fouten in de risico-beoordeling op regionale schaal". Het is inderdaad zo dat cadmium in tegenstelling tot koper en zink geen hydrolyse species van betekenis vormt. Wel kunnen carbonaat, sulfide en chloride species een belangrijke rol spelen. Voor brakke en zoute wateren zou de speciatie dus wel een belangrijke rol kunnen spelen.

Volgens het RAR document is het in de risico-beoordeling van cadmium wel belangrijk om de concentratie cadmium in gefilterd water te gebruiken dus de totaal opgeloste hoeveelheid cadmium.

De waterhardheid correctie die in het RAR document wordt voorgesteld is overgenomen van de US-EPA (EPA, 2001). Deze hardheidscorrectie wordt ook toegepast op alle toxiciteitsgegevens ongeacht de soort waarvoor de effectwaarde is bepaald.

$$NOEC_{H=50} = NOEC_H \times \left(\frac{50}{H}\right)^{0.7409}$$

Waarin:

$NOEC_{H=50}$ = 'no observed effect concentration' bij een hardheid van 50 mg $CaCO_3.L^{-1}$.

$NOEC_H$ = ‘no observed effect concentration’ gemeten in het water met een hardheid H

H = hardheid van het water uitgedrukt in mg $CaCO_3.L^{-1}$.

De hardheidscorrectie is toepasbaar voor wateren met een hardheid van 44 - 209 mg $CaCO_3.L^{-1}$.

4.2 Berekening speciatie in oppervlaktewater

Om het BLM te kunnen toepassen moet de chemie van het water vrij gedetailleerd bekend zijn. Deze gegevens zijn voor enkele locaties in Rijkswateren opgezocht in “waterstat” (*www.waterstat.nl*). Dit is een online te benaderen database waarin allerlei meetgegevens (fysisch, chemisch, ecologisch etc.) voor Rijkswateren zijn verzameld. De gegevens zijn representatief voor het desbetreffende monsterpunt en jaar waarin is gemeten. De concentraties van koper, zink en cadmium en andere benodigde parameters worden gegeven als jaargemiddelde concentraties inclusief spreidingsmaten als standaarddeviatie etcetera.

De gegevens voor het meest recent beschikbare jaar zijn gebruikt. Voor de totaal concentratie metalen in het oppervlaktewater zijn dit gegevens uit 2003. Soms waren voor macro-ionen zoals calcium en magnesium geen gegevens uit 2003 beschikbaar. In die gevallen zijn oudere gegevens gebruikt waarbij we hebben aangenomen dat de gemiddelde concentratie anno 2003 hetzelfde was als in voorgaande jaren. Tijdreeksen van de desbetreffende macro-ionen op deze locaties laat zien dat de jaargemiddelde concentratie hiervan weinig varieert tussen de jaren.

Indien jaargemiddelde cijfers in waterstat ontbraken, zijn gegevens uit de “waterbase” database (*www.waterbase.nl*) opgenomen.. In tegenstelling tot “waterstat”, welke representatieve (statistisch bewerkte) gegevens levert, geeft waterbase alleen puntmetingen.

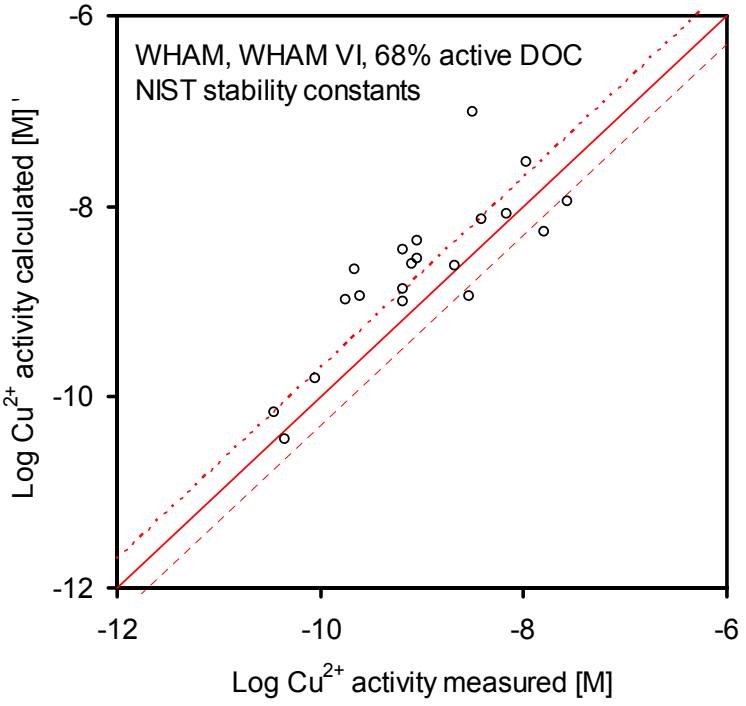
Voor een totaal van 9 locaties zijn alle benodigde gegevens verzameld, zie Tabel 13. In enkele gevallen lagen de metaalconcentraties beneden de detectielimiet. In die gevallen is aangenomen dat de concentratie van het metaal de helft van de detectielimiet is.

De totaal concentraties opgeloste ionen zijn vervolgens omgerekend met behulp van WHAM VI naar vrije activiteit van de ionen. De totaal concentratie Cd in oppervlaktewater is niet omgerekend naar de vrije Cd^{2+} activiteit omdat dit niet noodzakelijk is voor het toepassen van de BLM zoals uitgelegd in paragraaf 4.1.4.

Tabel 13: Watereigenschappen van de negen onderzochte locaties. Gegevens uitgedrukt in mol.L^{-1} en totaal opgeloste concentratie.

Locatie	pH	Ca [M]	Mg [M]	K [M]	Na [M]	Cl^- [M]	SO_4^{2-} [M]	CO_{3tot} [M]	DOC [g C/L]	Cu_{tot} [M]	Zn_{tot} [M]	Cd_{tot} [M]	T [K]
Amsterdam	7.93	1.86×10^{-3}	8.41×10^{-4}	2.73×10^{-4}	4.91×10^{-3}	5.44×10^{-2}	3.43×10^{-3}	2.19×10^{-3}	6.70×10^{-3}	5.35×10^{-8}	8.00×10^{-8}	1.54×10^{-10}	286.2
Bovensluis	7.97	1.73×10^{-3}	5.28×10^{-4}	1.38×10^{-4}	1.58×10^{-3}	2.62×10^{-3}	6.87×10^{-4}	2.61×10^{-3}	3.30×10^{-3}	5.94×10^{-8}	1.42×10^{-7}	4.57×10^{-10}	287.5
Eemmeerdijk	8.4	1.89×10^{-3}	5.10×10^{-4}	2.79×10^{-4}	2.78×10^{-3}	2.34×10^{-3}	9.37×10^{-4}	2.05×10^{-3}	1.03×10^{-2}	2.55×10^{-8}	3.72×10^{-8}	1.31×10^{-10}	285.9
Eijsden	7.71	1.65×10^{-3}	2.92×10^{-4}	1.18×10^{-4}	1.09×10^{-3}	1.41×10^{-3}	5.31×10^{-4}	2.82×10^{-3}	3.69×10^{-3}	3.80×10^{-8}	2.17×10^{-7}	8.01×10^{-10}	287.9
Kampen	8.11	1.55×10^{-3}	4.81×10^{-4}	1.66×10^{-4}	3.57×10^{-3}	2.62×10^{-3}	6.97×10^{-4}	2.67×10^{-3}	4.10×10^{-3}	3.89×10^{-8}	1.03×10^{-7}	2.41×10^{-10}	286.7
Keizersveer	7.78	1.64×10^{-3}	3.29×10^{-4}	1.41×10^{-4}	1.65×10^{-3}	1.41×10^{-3}	6.35×10^{-4}	2.70×10^{-3}	4.40×10^{-3}	2.59×10^{-8}	1.28×10^{-7}	2.70×10^{-10}	288.0
Lobith	7.74	2.17×10^{-3}	2.06×10^{-3}	1.30×10^{-4}	2.57×10^{-3}	2.76×10^{-3}	7.18×10^{-4}	2.91×10^{-3}	3.04×10^{-3}	4.91×10^{-8}	8.87×10^{-8}	4.45×10^{-10}	287.4
Sas van Gent	7.66	6.46×10^{-3}	5.47×10^{-3}	1.13×10^{-3}	1.96×10^{-2}	4.23×10^{-2}	3.12×10^{-3}	4.90×10^{-3}	6.70×10^{-3}	3.53×10^{-8}	2.38×10^{-7}	2.02×10^{-10}	287.9
Veluwemeer	8.37	2.17×10^{-3}	6.30×10^{-4}	2.61×10^{-4}	4.43×10^{-3}	4.03×10^{-3}	1.56×10^{-3}	2.36×10^{-3}	9.10×10^{-3}	1.73×10^{-8}	1.09×10^{-8}	1.31×10^{-10}	285.4

De data gegeven door De Schamphelaere *et al.* (2003) bieden de mogelijkheid om de betrouwbaarheid van de berekende koper activiteiten te testen. De Schamphelaere *et al.* (2003) geven zowel gemeten koperactiviteiten en totale koperconcentraties in experimenten waar de chronische toxiciteit van koper op algen is bestudeerd. Met behulp van de gemeten watereigenschappen en de totale hoeveelheid koper en de reacties zoals gedefinieerd in paragraaf 4.1.2 zijn de vrije koper activiteiten berekend. Deze kunnen worden vergeleken met de gemeten vrije koper activiteit, zie Figuur 3.



Figuur 3: Gemeten en berekende koper activiteit zoals gemeten bij de 72h koper NOECs van algen. Koperactiviteit berekend volgens de reacties gedefinieerd in paragraaf 4.1.2. Data afkomstig van De Schamphelaere *et al*. (2003). De doorgetrokken lijn geeft de positie van de perfecte voorspelling weer. De stippellijnen geeft het gebied weer met een factor twee onder- of overschatting van de gemeten koperactiviteit.

De vergelijking van de gemeten en berekende activiteiten laat zien dat 14 van de 20 datapunten een maximale afwijking van een factor 4 hebben. De grootste afwijking tussen gemeten en berekende activiteit is een factor 30.

Eenzelfde analyse van gemeten en berekende activiteit voor zink kan niet gemaakt worden, omdat datasets die deze vergelijking mogelijk maken, niet voorhanden zijn binnen dit project.

4.3 Potentieel aangetaste fracties

De berekening van potentieel aangetaste fracties is uitgevoerd op basis van de chronische BLMs.

4.3.1 Selectie toxiciteitsgegevens

Om BLMs toe te passen, moeten naast de toxiciteitsgegevens, zoals bijvoorbeeld een gerapporteerde NOEC, ook macrochemische eigenschappen van het water waarin de toxiciteit wordt gemeten, bekend zijn (zie 4.1). Toxiciteitsgegevens waarbij in detail de macrochemische eigenschappen van het water zijn gegeven, zijn zeldzaam en meestal afkomstig uit publicaties waarin BLM onderzoek wordt gepresenteerd. In de hier uitgevoerde studie is gebruik gemaakt van een beperkt aantal publicaties met betrekking tot BLM onderzoek, waarin de benodigde gegevens makkelijk beschikbaar waren. In onderstaande tabel is een overzicht gegeven van de gebruikte toxiciteitsgegevens voor koper en zink.

Tabel 14: Overzicht van chronische toxiciteitsgegevens gebruikt voor het maken van de waterspecifieke soortgevoeligheids verdelingscurven voor koper en zink.

Koper		
P. subcapitata	72h NOEC; groeisnelheid	De Schamphelaere *et al.*, 2003
D. magna	21d NOEC; vermenigvuldiging	De Schamphelaere & Janssen, 2004a
Zink		
P. subcapitata	72h NOEC/EC_{10}; groeisnelheid	De Schamphelaere *et al.*, 2005b
D. magna	21d NOEC; vermenigvuldiging	De Schamphelaere *et al*., 2005b
O. mykiss	30d NOEC; overleving	De Schamphelaere&Janssen, 2004c
O. mykiss	30d NOEC; overleving	De Schamphelaere *et al*., 2005b

De toxiciteit is uitgedrukt in NOECs. Bij één studie is gebruik gemaakt van een EC_{10}-waarde als substituut voor een NOEC bij de bepaling van de toxiciteit van zink op *P. subcapitata*. De NOEC werd opgegeven als < 52.6 $\mu g.L^{-1}$ opgelost zink terwijl de EC_{10} waarde was bepaald op 27.3 $\mu g.L^{-1}$ (De Schamphelaere *et al.*, 2005b).

Chronische toxiciteitsgegevens voor cadmium zijn overgenomen uit het Cd-RAR document (EU, 2003) mits bekend bij welke hardheid van het water de toxiciteit was bepaald. Voor Cd zijn meer NOECs gevonden vergeleken met de metalen Cu en Zn omdat voor dit metaal alleen de watereigenschap hardheid bekend hoeft te zijn. Een overzicht van de geselecteerde chronische NOECs voor cadmium staat vermeld in Tabel 15.

Tabel 15: Overzicht van toxiciteitsgegevens gebruikt voor het maken van de waterspecifieke soortgevoeligheids verdelingscurven voor cadmium.

Soort	**Tijdsduur & eindpunt test**	**Referentie**
Coelastrum proboscideum	1d; NOEC; biomassa	Müller & Payer, 1979
Asterionella formosa	1d NOEC; groeisnelheid	Conway & Williams, 1979
Chlamydomonas reinhardii	7d NOEC; steade state cell number	Lawrence *et al*., 1989
Scenedesmus quadricauda	7d NOEC; biomassa (OD)	Bringman & Kühn, 1980
Lemna paucicostata	7d NOEC; number of fronds	Nasu & Kugimoto, 1981
Catostomus commersoni	30d NOEC; biomassa	Eaton *et al*., 1978
Daphnia magna	21d NOEC; reproductie	Kühn *et al*., 1989
Daphnia magna	21d NOEC; reproductie	Knowles & McKee, 1987
Aplexa hypnorum	26d NOEC; groei	Holcombe *et al*., 1984
Physa integra	21d NOEC; mortaliteit	Spehar *et al*., 1978
Ceriodaphnia dubia	7d NOEC; reproductie	Jop *et al*., 1995
Daphnia magna	21d NOEC; reproductie	Chapman *et al.*, 1980
Hyalella azteca	42d NOEC; overleving	Ingersoll & Kemble, 2000
Chironomus tentans	20d NOEC gewicht	Ingersoll & Kemble, 2000
Daphnia magna	14d NOEC verminderde reproductie	Elnabarawy *et al.*, 1986
Daphnia pulex	14d NOEC verminderde reproductie	Elnabarawy *et al.*, 1986
Ceriodaphnia reticulata	7 d NOEC verminderde reproductie	Elnabarawy *et al*, 1986
Daphnia magna	21d NOEC; weight per animal	Biesinger & Christensen, 1972
Daphnia pulex	104d NOEC; leeftijd	Bertram & Hart, 1979
Ceriodaphnia dubia	7d NOEC; mortaliteit	Winner 1988
Daphnia magna	7d NOEC; reproductie	Winner 1988
Daphnia magna	21d NOEC ;mortaliteit	Van Leeuwen *et al*., 1985
Daphnia galeata mendotae	154d NOEC; aantallen	Marshall, 1978
Daphnia magna	25d NOEC biomassa	Bodar *et al*., 1988
Esox lucius	28d NOEC; biomassa	Eaton *et al*., 1978
Oncorhynchus kisutch	27d NOEC; biomassa	Eaton *et al*., 1978
Salvelinus namaycush	31d NOEC; biomassa	Eaton *et al*., 1978
Salvelinus fontinalis	126d NOEC; biomassa	Eaton *et al*., 1978
Salmo trutta	61d NOEC; biomassa	Eaton *et al*., 1978
Jordanella floridae	100d NOEC; reproductie	Spehar, 1976
Salvelinus fontinalis	10d NOEC; overleving	Jop *et al*., 1995
Brachidanio rerio	36d NOEC; reproductie	Bresch, 1982
Poecilia reticulata	18d NOEC; mort & abnormal hehav	Canton & Slooff., 1982
Xenopus laevis	100d NOEC; inhib. larvae devel	Canton & Slooff., 1982
Salmo gairdneri	48d NOEC; survival time	Dave *et al.*, 1981
Selenastrum capricornutum	3d NOEC; cell number	LISEC, 1998

De toxiciteitsgegevens zijn niet geselecteerd om de ecologische effecten van metalen op het ecosysteem in het Nederlandse oppervlaktewater zo goed mogelijk te beoordelen. Vooral de toxiciteitsgegevens van koper en zink hebben betrekking op een beperkt aantal species; de koper dataset ontbeert toxiciteitsgegevens voor vissen. De soortgevoeligheids verdelingscurven berekend op basis van de geselecteerde toxiciteitsgegevens, zijn daarom niet geschikt voor het afleiden van normen in de desbetreffende wateren. Wel zijn de gegevens geschikt voor het zichtbaar maken van het effect van het gebruik van BLMs op de soortgevoeligheids verdelingscurven.

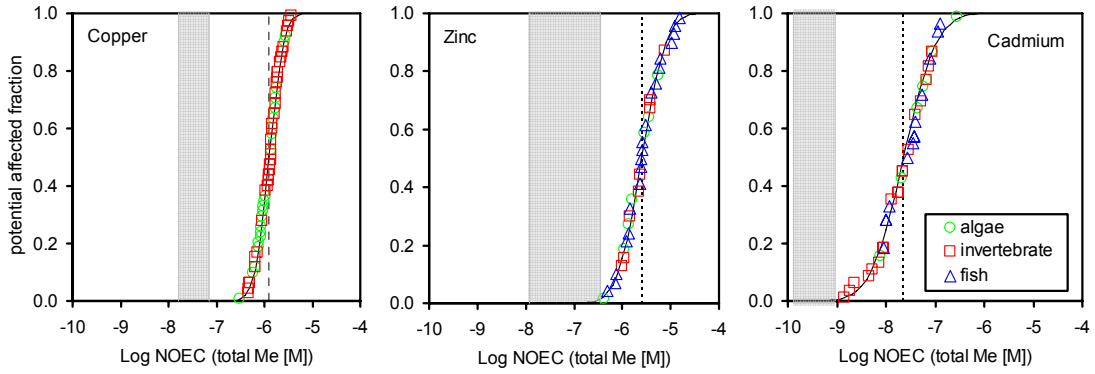
De geselecteerde toxiciteitsgegevens zoals gegeven in Tabel 14 en Tabel 15, vallen binnen de range van watertypen waarvoor de BLMs toepasbaar zijn. Voor de range aan watertypen, zie paragraaf 4.1.

4.3.2 PAF op basis totaal concentraties metalen

Naast het inventariseren van BLMs, is deze studie gericht op het vergelijken van de uitkomsten van een effectanalyse op basis van totaal metaalconcentraties en een effectanalyse op basis van BLM modellering. Voor een correcte vergelijking worden de toxiciteitsgegevens zoals gespecificeerd in de voorgaande paragraaf (zie 4.3.1) geplot als soortgevoeligheids verdelingscurve op basis van totaal metaalconcentratie ***ongecorrigeerd*** voor de biobeschikbaarheid van de metalen. Daarna kunnen deze frequentie-curven vergeleken worden met de frequentie-curven waarbij ***gecorrigeerd*** is voor de biobeschikbaarheid van de metalen in de negen geselecteerde watertypen.

Het vergelijken van de frequentie-curven wordt gedaan met behulp van de berekende HC_{50} waarde. De HC_{50} waarde komt overeen met de mediaan van de log getransformeerde NOECs. De HC_{50} waarde is gekozen in plaats van bijvoorbeeld de berekende HC_5 waarde omdat de HC50 robuuster is. Afwijkende waarden in de gemeten NOECs beïnvloeden een HC_5 waarde veel sterker dan de HC_{50} waarde. Daarnaast is de potentieel aangetaste fractie berekend met behulp van de frequentie curve en de jaargemiddelde concentratie van het metaal op een locatie.

De NOECs, de gefitte soortgevoeligheids verdelingscurven, de range van gemeten metaalconcentraties op de negen locaties en de berekende HC_{50} waarde zijn weergegeven in Figuur 4.



Figuur 4: Soortgevoeligheids verdelingscurven voor koper, zink & cadmium op basis van totaal opgelost metaal, ***geen*** rekening houdend met de biobeschikbaarheid van de metalen. De doorgetrokken lijn representeert de gefitte frequentie-curve. De stippellijn duidt de HC_{50} waarde aan. Het gearceerde oppervlak geeft het gebied weer waar 90% van de waargenomen metaalconcentraties zich in 2003 bevonden op de negen locaties. De parameters die de frequentieE beschrijven en de berekende HC_{50} waarde, zijn vermeld in Tabel 16. De PAFs berekend op basis van de metaalconcentraties in de negen watertypen en gefitte soortgevoeligheids verdelingscurven zijn vermeld in Tabel 17.

De parameters die de gefitte frequentie-curve beschrijven en de afgeleide HC_{50} waarde zijn berekend met E_TX. De gefitte frequentie-curve geeft een goede beschrijving van de gemeten NOECs. Parameters zijn gegeven in Tabel 16.

Tabel 16: Gefitte parameters voor de log-normale verdeling zoals getoond in Figuur 4 en de berekende HC_{50} waarden.

Element	Frequentie verdeling		HC_{50}	
	gemiddelde	st. dev.	mediaan	90% betrouwbaarheids interval
	Log Me [M]	[-]	Me [M]	Me [M]
Koper	-5.900	0.242	1.26×10^{-6}	$1.11\times10^{-6} – 1.43\times10^{-6}$
Zink	-5.598	0.394	2.52×10^{-6}	$1.95\times10^{-6} – 3.27\times10^{-6}$
Cadmium	-7.638	0.528	2.30×10^{-8}	$1.67\times10^{-8} – 3.17\times10^{-8}$

Met behulp van de gefitte soortgevoeligheids verdelingscurven en de geobserveerde metaalconcentraties op de negen verschillende locaties zijn de potentieel aangetaste fractie soorten berekend. Deze staan in Tabel 17.

Tabel 17: Potentieel aangetaste fractie berekend op basis van de frequenties uit Figuur 4 en waargenomen jaargemiddelde metaalconcentratie in 2003 ***geen*** rekening houdend met de biobeschikbaarheid van de metalen.

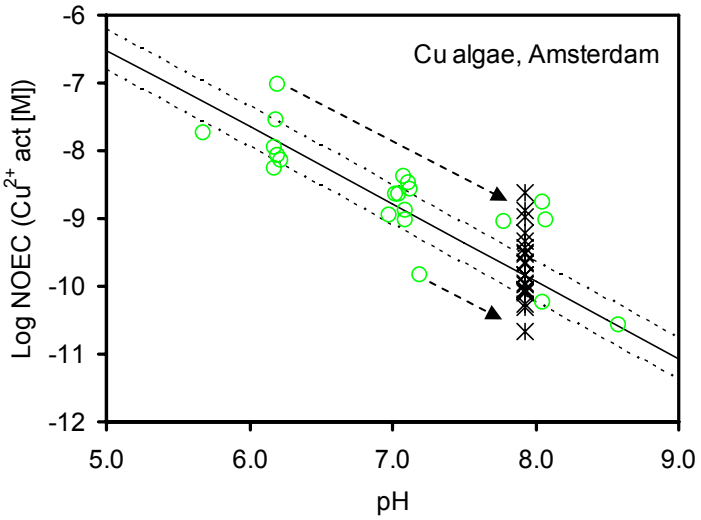
Watertype	PAF – Cu	PAF – Zn	PAF – Cd
Amsterdam	6.80×10^{-9}	7.07×10^{-5}	1.87×10^{-5}
Bovensluis	2.02×10^{-8}	7.59×10^{-4}	6.27×10^{-4}
Eemmeerdijk	1.16×10^{-12}	1.67×10^{-6}	1.07×10^{-5}
Eijsden	1.53×10^{-10}	3.42×10^{-3}	2.85×10^{-3}
Kampen	2.04×10^{-10}	2.09×10^{-4}	8.79×10^{-5}
Keizersveer	1.44×10^{-12}	5.00×10^{-4}	1.27×10^{-4}
Lobith	2.75×10^{-9}	1.11×10^{-4}	5.82×10^{-4}
Sas van Gent	6.64×10^{-11}	4.65×10^{-3}	4.83×10^{-5}
Veluwemeer	6.34×10^{-15}	9.69×10^{-10}	1.06×10^{-5}

Deze uitkomsten zullen, zoals eerder gezegd, vergeleken worden met de uitkomsten zoals berekend met behulp van het BLM raamwerk.

4.3.3 PAF door koper

Voorspelling NOECs door BLM

Voordat de waterspecifieke soortgevoeligheids verdelingscurven worden getoond, wordt het effect van het meenemen van biobeschikbaarheid op de NOECs besproken. Voor de algen staan in Figuur 5 de waargenomen NOECs als functie van de pH, de beschrijving van de waargenomen NOECs door het BLM en het resultaat van het berekenen van de watertype specifieke NOECs voor de locatie Amsterdam. Het figuur maakt inzichtelijk hoe de NOECs gemeten in de wateren met verschillende watereigenschappen worden omgerekend naar het watertype op de locatie Amsterdam. Hoe de NOECs “verschuiven” naar de pH van het water op de locatie Amsterdam is aangegeven met de pijlen.

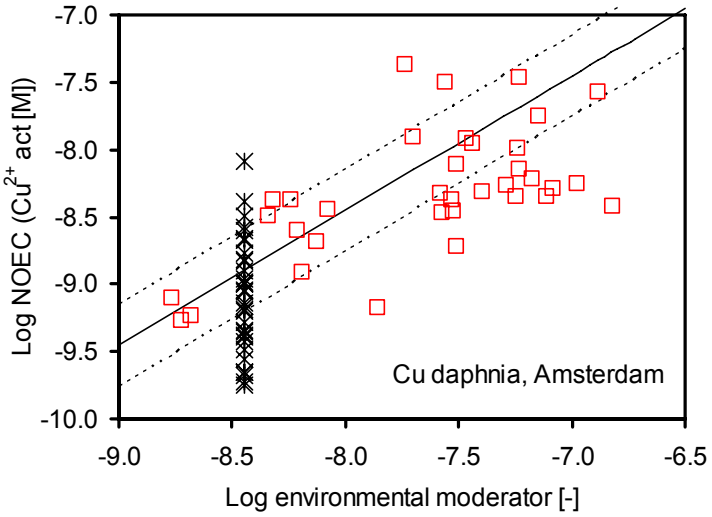


Figuur 5: Resultaat van het corrigeren van de NOECs voor de pH van het water. De cirkels stellen de originele, niet gecorrigeerde NOECs weer op basis van koper activiteit. De doorgetrokken lijn geeft de relatie tussen pH en koper toxiciteit zoals gegeven door De Schamphelaere *et al.*, 2003 (zie Tabel 2). De stippellijnen geven het gebied weer met een factor twee onder- of overschatting van de NOECs. De kruisjes geven waterspecifieke NOECs weer nadat ze zijn omgerekend naar de pH van het water op de locatie Amsterdam. Voor wateren met een hoge pH (zoals alle wateren in deze studie) heeft dit tot gevolg dat de NOECs lager worden. Dat wil zeggen dat de algen bij hoge pH gevoeliger zijn voor de effecten van koper dan bij lage pH. Hoe de NOECs "verschuiven" naar de pH van het water op de locatie Amsterdam is aangegeven voor twee NOECs met pijlen.

Het effect van Cu op algen wordt alleen gecorrigeerd voor de pH van het water (zie paragraaf 4.1.2).), waardoor de NOECs eenvoudig te plotten zijn als functie van de pH van het water. Resultaten uit Figuur 5 laat zien dat de meeste NOECs tot op een factor 2 goed voorspeld worden door het eenvoudige model. Bovendien laat Figuur 5 zien dat, gegeven de hoge pH van de meeste Rijkswateren de watertype specifieke NOECs ***lager*** zullen zijn dan de niet voor biobeschikbaarheid gecorrigeerde NOECs.

Op eenzelfde manier als voor het effect van koper op algen is de relatie tussen de watereigenschappen en de gemeten NOECs voor het effect op *Daphnia magna* weergeven. In dit geval is niet alleen de pH van het water van belang maar eveneens de natrium- en carbonaatconcentraties van het water. Het gezamenlijke effect van de

watereigenschappen kan worden samengevat in de zogenaamde 'environmental moderator' (zie paragraaf 2.2). Het resultaat is weergegeven in Figuur 6. Het "verschuiven" van de NOECs gaat op eenzelfde manier als bij de algen (Figuur 5).



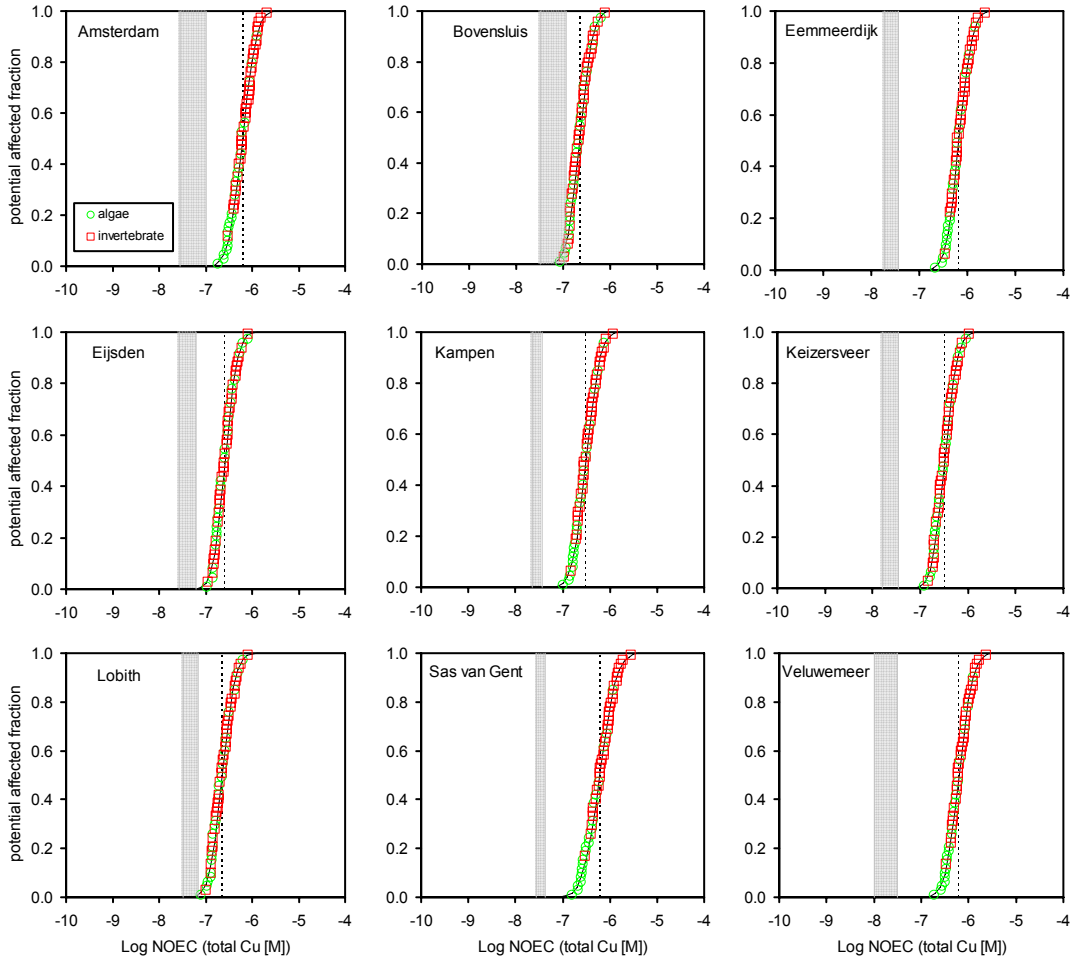
Figuur 6: Resultaat van het corrigeren van de NOECs voor de invloed van het water. De vierkantjes stellen de originele, niet gecorrigeerde NOECs weer op basis van koper activiteit. De doorgetrokken lijn geeft de relatie tussen de 'environmental moderator' en koper toxiciteit zoals gegeven door De Schamphelaere & Janssen, 2004b (zie Tabel 4). De kruisjes geven waterspecifieke NOECs weer nadat ze omgerekend zijn naar de watereigenschappen op de locatie Amsterdam. De stippellijnen geven het gebied weer met een factor twee onder- of overschatting van de waargenomen NOECs.

Figuur 6 laat zien dat voor het watertype op de locatie Amsterdam de invloed van het water leidt tot gemiddeld iets lagere NOECs dan de niet voor biobeschikbaarheid gecorrigeerde NOECs.

De beschrijving van de waargenomen NOECs als functie van de watereigenschappen is minder goed. Dit is deels te verklaren door de in enkele gevallen minder goede voorspelling van de vrije Cu^{2+} activiteit (zie Figuur 3). De afwijking tussen de waargenomen NOECs en voorspelde NOECs door het BLM is dus waarschijnlijk deels toe te schrijven aan onzekerheden in de beschrijving van de anorganische reacties en koperbinding aan DOC. Aan de andere kant geeft het kopermodel wel een gemiddeld goede voorspelling van de gemeten chronische toxiciteit als functie van de watersamenstelling.

SSD-curve

Op basis van de watertype specifieke NOECs kunnen nu de frequentie curven geplot worden, zie Figuur 7. Wanneer de frequentie-plots op basis van totaal opgelost koper ***ongecorrigeerd*** voor biobeschikbaarheid (Figuur 4) worden vergeleken met de frequentie-plots waarin gecorrigeerd is voor biobeschikbaarheid met behulp van BLM modellering (Figuur 7), valt op dat in veel gevallen een scheiding plaatsvindt tussen de NOECs van de algen en de invertebraten. Dit is vooral goed te zien op de locaties Amsterdam, Eemmeerdijk, Kampen, Sas van Gent en Veluwemeer.



Figuur 7: Soortgevoeligheid verdelingscurven voor de negen verschillende watertypen op basis van totaal concentratie opgelost koper. De doorgetrokken lijn geeft de gefitte soortgevoeligheids verdelingscurve weer. De stippellijn geeft de HC_{50}-waarde aan. Het gearceerde oppervlak geeft het gebied weer waar 90% van de gemeten koperconcentraties zich in 2003 bevonden.

Vervolgens zijn met E_TX de soortgevoeligheids verdelingscurven gefit. De gebruikte log-normale verdeling geeft een goede beschrijving van de data. De gefitte soortgevoeligheids verdelingscurve is vervolgens gebruikt om de HC_{50} waarde en PAF te berekenen.

HC_{50} & PAF

In Tabel 18 staan de gefitte parameters van de watertype specifieke frequentie verdelingscurven voor Cu.

Tabel 18: Gefitte parameters van de log-normale verdeling zoals getoond in Figuur 7 en de berekende HC_{50} voor de watertype specifieke koper soortgevoeligheids verdelingscurven.

Watertype	Frequentie verdeling		HC_{50}	
	mean	st. dev.	mediaan	90% betrouwbaarheids interval
	Log Me [M]	[-]	Me [M]	Me [M]
Amsterdam	-6.20	0.24	6.26×10^{-7}	$5.54\times10^{-7} – 7.07\times10^{-7}$
Bovensluis	-6.64	0.21	2.27×10^{-7}	$2.04\times10^{-7} – 2.54\times10^{-7}$
Eemmeerdijk	-6.17	0.22	6.75×10^{-7}	$6.04\times10^{-7} – 7.54\times10^{-7}$
Eijsden	-6.57	0.21	2.67×10^{-7}	$2.39\times10^{-7} – 2.97\times10^{-7}$
Kampen	-6.50	0.23	3.16×10^{-7}	$2.81\times10^{-7} – 3.55\times10^{-7}$
Keizersveer	-6.49	0.21	3.27×10^{-7}	$2.93\times10^{-7} – 3.64\times10^{-7}$
Lobith	-6.64	0.22	2.30×10^{-7}	$2.05\times10^{-7} – 2.59\times10^{-7}$
Sas van Gent	-6.21	0.28	6.11×10^{-7}	$5.29\times10^{-7} – 7.06\times10^{-7}$
Veluwemeer	-6.20	0.23	6.31×10^{-7}	$5.61\times10^{-7} – 7.11\times10^{-7}$

Wanneer we de soortgevoeligheids verdelingscurve van Figuur 7 vergelijken met die van Figuur 4 dan valt op dat de algen in vergelijking met de watervlooien gevoeliger worden. De gehele soortgevoeligheids verdelingscurve verschuift iets naar links (van gemiddeld –5.9 naar –6.2) wanneer de watertype afhankelijkheid wordt meegenomen. De watertype afhankelijke HC_{50} is een factor 5.6 tot 1.9 ***lager*** dan de niet op biobeschikbaarheid gecorrigeerde HC_{50}. Dit is te zien in Tabel 19.

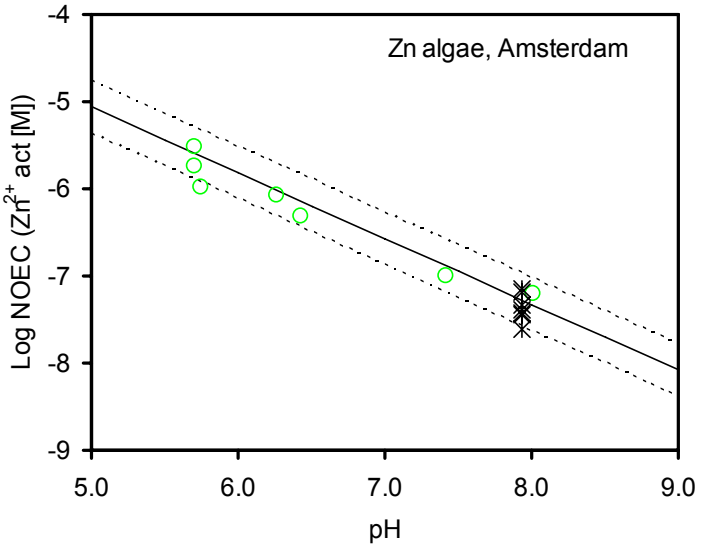
Tabel 19: Vergelijking van de HC_{50} waarde zoals berekend ***ongecorrigeerd*** voor biobeschikbaarheid van koper en ***gecorrigeerd*** met de biobeschikbaarheid van koper in de negen verschillende watertypen.

watertype	HC_{50} ongecorrigeerd Cu_T [M]	Watertype specifieke HC_{50} Cu_T [M]	specifieke HC_{50}/ HC_{50} ongecorrigeerd [-]
Amsterdam	1.26×10^{-6}	6.26×10^{-7}	0.50
Bovensluis	1.26×10^{-6}	2.27×10^{-7}	0.18
Eemmeerdijk	1.26×10^{-6}	6.75×10^{-7}	0.54
Eijsden	1.26×10^{-6}	2.67×10^{-7}	0.21
Kampen	1.26×10^{-6}	3.16×10^{-7}	0.25
Keizersveer	1.26×10^{-6}	3.27×10^{-7}	0.26
Lobith	1.26×10^{-6}	2.30×10^{-7}	0.18
Sas van Gent	1.26×10^{-6}	6.11×10^{-7}	0.49
Veluwemeer	1.26×10^{-6}	6.31×10^{-7}	0.50

4.3.4 PAF door Zink

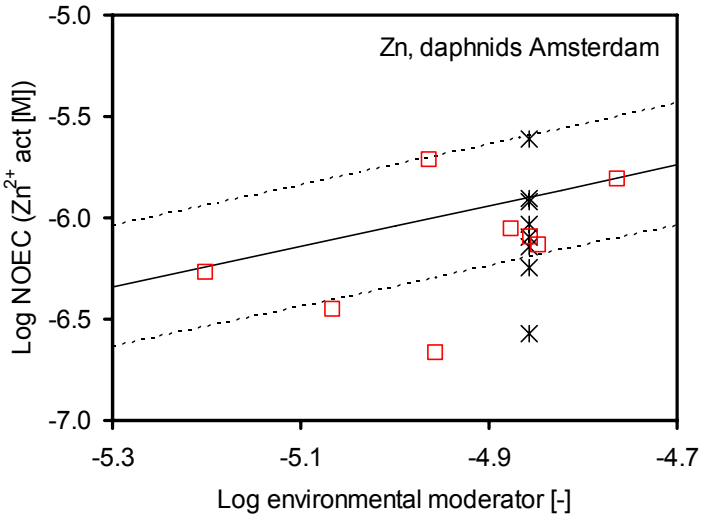
Voorspelling NOECs door BLM

Figuur 8 laat de waargenomen NOECs voor de chronische effecten van Zn op algen zien als functie van de pH. Waarnemingen en voorspellingen zijn binnen een factor 2. De geselecteerde wateren in deze studie hebben allen een relatief hoge pH waardoor de watertype specifieke NOECs lager uitvallen dan de NOECs die niet gecorrigeerd zijn voor de pH van het water.



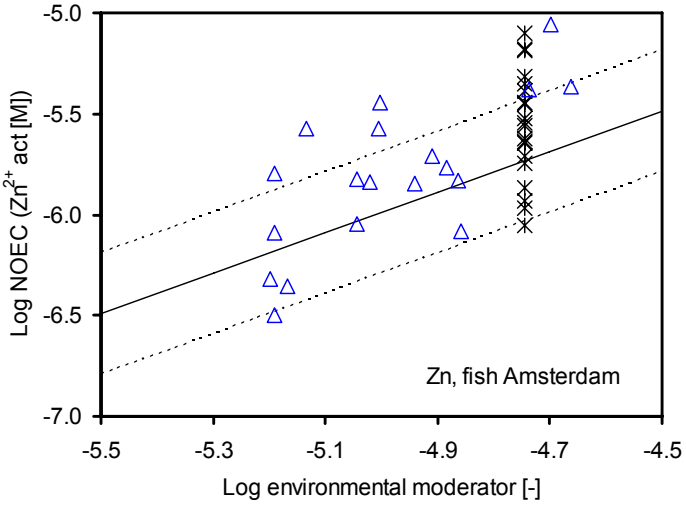
Figuur 8: Resultaat van het corrigeren van de NOECs voor de pH van het water. De cirkels stellen de originele, niet gecorrigeerde NOECs weer op basis van zink activiteit. De doorgetrokken lijn geeft de relatie tussen pH en zink toxiciteit zoals gegeven door De Schamphelaere *et al.*, 2005b (zie Tabel 9). De stippellijnen geven het gebied weer met een factor twee onder- of overschatting van de waargenomen NOECs. De kruisjes geven waterspecifieke NOECs weer nadat ze zijn omgerekend naar de pH van het water op de locatie Amsterdam. Voor wateren met een hoge pH (zoals alle wateren in deze studie) heeft dit tot gevolg dat de NOECs lager worden. Dat wil zeggen dat de algen bij hoge pH gevoeliger zijn voor de effecten van zink dan bij lage pH.

De beschrijving van de waargenomen NOECs voor de chronische effecten van zink op *Daphnia magna* is weergegeven in Figuur 9. De NOECs worden tot op een factor 2 goed voorspeld. Voor de locatie Amsterdam komen de watertype afhankelijke NOECs iets hoger uit dan de gemiddelde ongecorrigeerde NOECs.



Figuur 9: Resultaat van het corrigeren van de NOECs voor de invloed van de watereigenschappen. De vierkantjes stellen de originele, niet gecorrigeerde NOECs weer op basis van zink activiteit. De doorgetrokken lijn geeft de relatie tussen 'environmental moderator' en de zinktoxiciteit zoals gegeven door Heijerick *et al.*, 2005 (zie Tabel 10). De stippellijnen geven het gebied weer met een factor twee onder- of overschatting van de waargenomen NOECs. De kruisjes geven waterspecifieke NOECs weer nadat ze omgerekend zijn naar de watereigenschappen op de locatie Amsterdam.

Voorspelling van de NOECs op basis van BLM resultaten voor het chronische effect van Zn op vissen is te zien in Figuur 10. De voorspelling is gebaseerd op het gebruik van de $f_{ZnBL}^{10\%}$ en niet de f_{ZnBL}^{NOEC}. Misschien liggen daarom de hierdoor de waargenomen NOECs gemiddeld iets hoger dan de voorspelde NOECs.

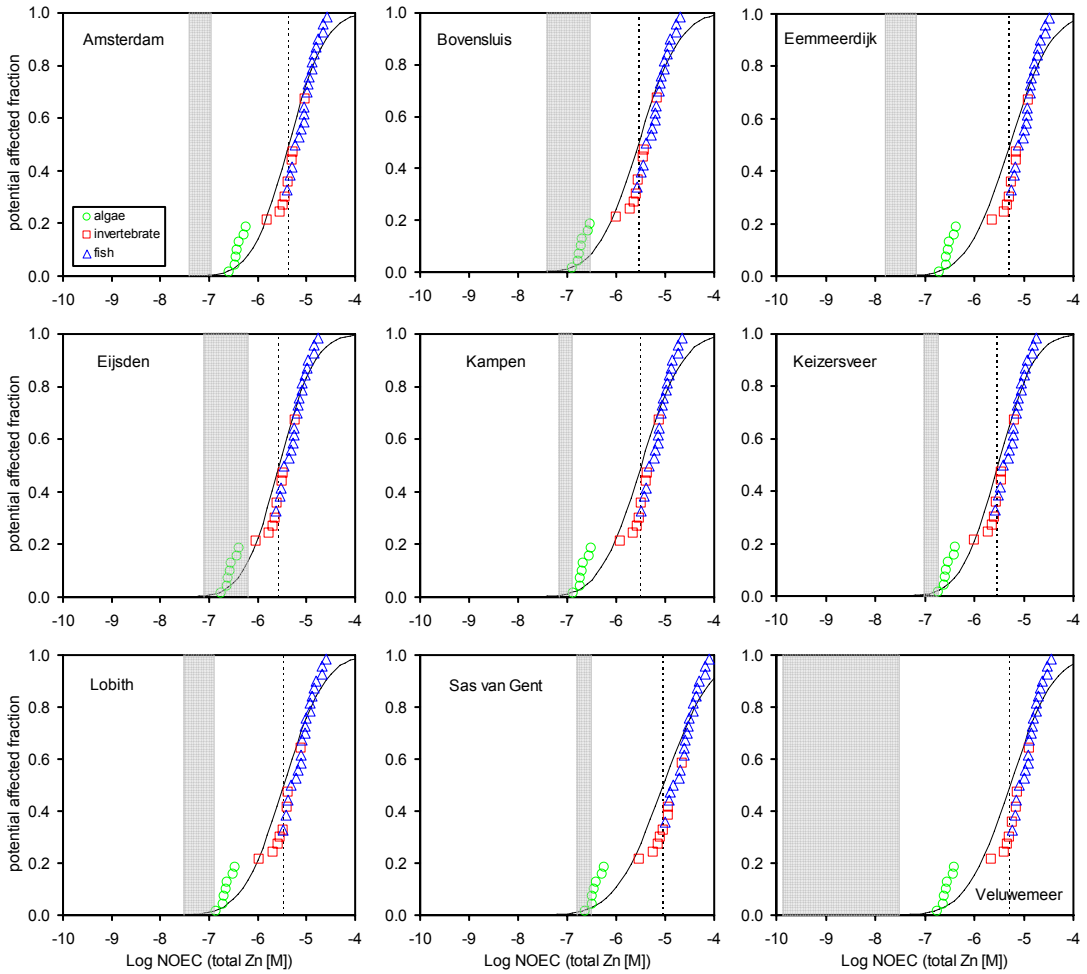


Figuur 10: Resultaat van het corrigeren van de zink NOECs voor de invloed van de watereigenschappen. De driehoekjes stellen de originele, niet gecorrigeerde NOECs weer op basis van zink activiteit. De doorgetrokken lijn geeft de relatie tussen 'environmental moderator' en de zinktoxiciteit zoals gegeven door De Schamphelaere & Janssen 2004c (zie Tabel 12). De stippellijnen geven het gebied weer met een factor twee onder- of overschatting van de waargenomen NOECs. De kruisjes geven waterspecifieke NOECs weer nadat ze omgerekend zijn naar de watereigenschappen op de locatie Amsterdam.

Het omrekenen van de waargenomen NOECs naar het specifieke watertype (hier locatie Amsterdam), leidt tot een verhoging van de NOECs. De waarnemingen worden veelal binnen een factor 2 goed voorspeld.

SSD-curve

De omrekening van NOECs naar voor biobeschikbaarheid gecorrigeerde waarden, leidt tot een verschuiving van gevoeligheden (zie paragraaf hierboven). Ditzelfde is terug te vinden in de watertype specifieke frequentie (Figuur 11) ten opzichte van de niet voor biobeschikbaarheid gecorrigeerde frequentie curve (Figuur 4). Algen komen nu als meest gevoelige soort naar voren en de vissen als minst gevoelig.



Figuur 11: Cumulatieve frequentie verdeling voor de negen verschillende watertypen op basis van totaal concentratie opgelost zink. De doorgetrokken lijn geeft de gefitte soortgevoeligheids verdelingscurve weer. De stippellijn geeft de HC_{50}-waarde aan. Het gearceerde oppervlak geeft het gebied weer waar 90% van de gemeten zinkconcentraties zich in 2003 bevonden.

De data laten zich niet goed beschrijven met de gefitte soortgevoeligheids verdelingcurve op basis van de log normale verdeling. Dit wordt voornamelijk veroorzaakt door de toxiciteitsgegevens van algen voor zink, zie Figuur 11. Desondanks zijn de parameter waarden gefit met behulp van het programma *ETX*.

HC_{50} & PAF

Met *ETX* zijn de parameters gefit voor de watertype specifieke soortgevoeligheids verdelingscurven voor Zn. De parameters zijn gegeven in Tabel 20.

Wanneer de cumulatieve frequentie verdeling van Figuur 11 vergeleken worden met die van Figuur 4 dan valt ook hier op dat de algen in vergelijking met de watervlooien gevoeliger worden. De positie van de soortgevoeligheids verdelingscurve blijft

vrijwel gelijk, namelijk van gemiddeld –5.6 ongecorrigeerd voor biobeschikbaarheid naar –5.5 gecorrigeerd voor de watertype afhankelijke biobeschikbaarheid.

Tabel 20: Gefitte parameters van de log-normale verdeling uit Figuur 11 en de berekende HC_{50} voor de watertype specifieke zink cumulatieve frequentie verdeling.

Watertype	Frequentie verdeling		HC_{50}	
	mean	st. dev.	mediaan	90% betrouwbaarheids interval
	Log Me [M]	[-]	Me [M]	Me [M]
Amsterdam	-5.36	0.59	4.34×10^{-6}	$2.94\times10^{-6} – 6.42\times10^{-6}$
Bovensluis	-5.54	0.66	2.88×10^{-6}	$1.87\times10^{-6} – 4.44\times10^{-6}$
Eemmeerdijk	-5.29	0.67	5.12×10^{-6}	$3.29\times10^{-6} – 7.98\times10^{-6}$
Eijsden	-5.56	0.58	2.75×10^{-6}	$1.88\times10^{-6} – 4.04\times10^{-6}$
Kampen	-5.49	0.67	3.22×10^{-6}	$2.08\times10^{-6} – 5.00\times10^{-6}$
Keizersveer	-5.53	0.58	2.98×10^{-6}	$2.03\times10^{-6} – 4.37\times10^{-6}$
Lobith	-5.47	0.67	3.42×10^{-6}	$2.20\times10^{-6} – 5.31\times10^{-6}$
Sas van Gent	-5.04	0.77	9.11×10^{-6}	$5.48\times10^{-6} – 1.52\times10^{-5}$
Veluwemeer	-5.28	0.70	5.24×10^{-6}	$3.30\times10^{-6} – 8.30\times10^{-6}$

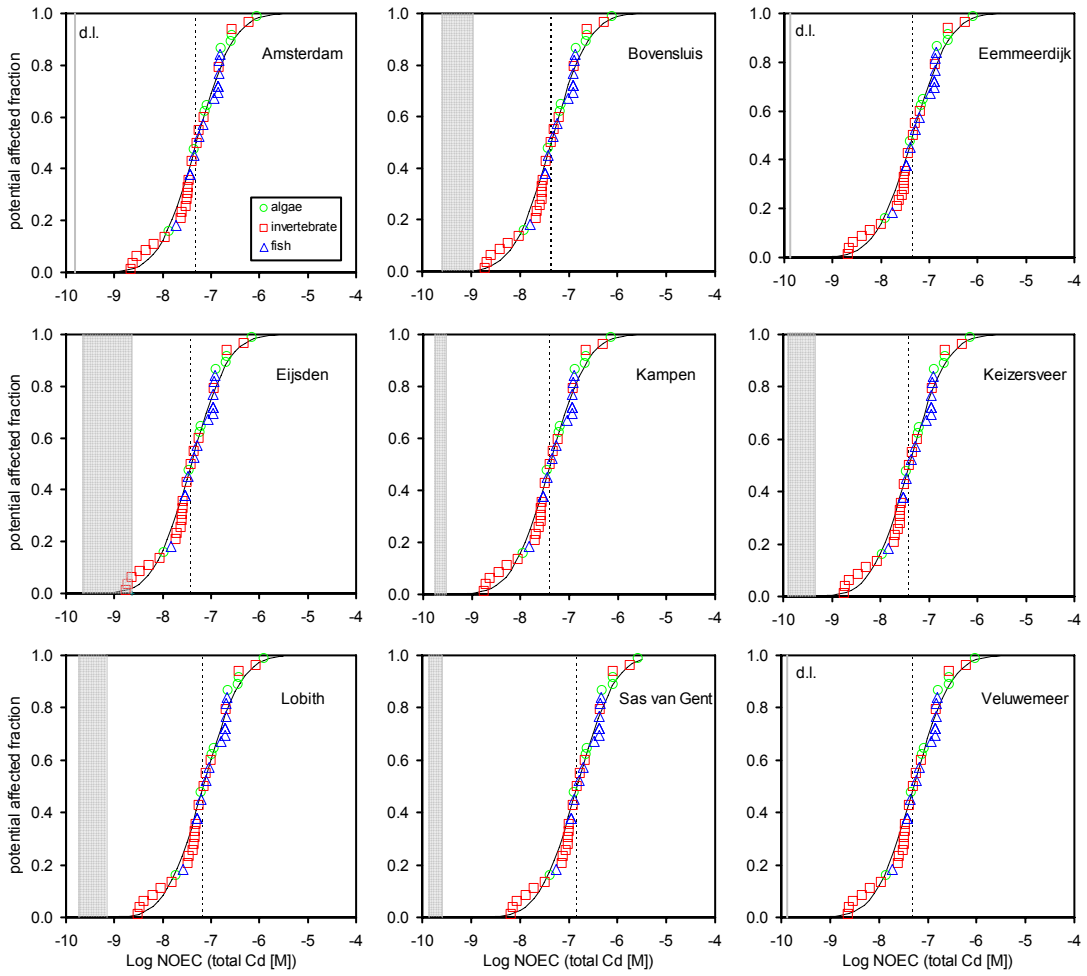
Voor zink zijn de voor biobeschikbaarheid gecorrigeerde HC_{50}-waarden een factor 1.1 tot 2.1 ***hoger*** dan de niet gecorrigeerde HC_{50}-waarden, met een uitschieter voor Sas van Gent. Deze uitschieter, van een factor 3.6, wordt veroorzaakt door de watereigenschappen van de locatie Sas van Gent. Het bevat ten opzichte van de andere Rijkswateren hoge concentraties calcium, magnesium en natrium en deze ionen verkleinen het toxisch effect van zink op *Daphnia magna* en *Oncorhynchus mykiss* (zie paragraaf 4.1.3).

Tabel 21: Vergelijking van de HC_{50} waarde ***ongecorrigeerd*** voor biobeschikbaarheid van zink en ***gecorrigeerd*** met de biobeschikbaarheid van zink in de negen verschillende watertypen.

4.3.5 PAF door Cadmium

SSD-curve

Over de kwaliteit van de voorspelling door het cadmium model kan niet zoveel gezegd worden. Het is geen voorspellend model in de zin dat je de effect waarde kunt uitdrukken als een functie van één of meerdere watereigenschappen zoals dat wel bij de andere drie metalen het geval was. Je kunt met het cadmium model geen voorspelling doen van de effectwaarde in een water wanneer je alleen de eigenschappen van het water kent. Het cadmium model zegt alleen iets over de manier waarop een gemeten effectwaarde kan worden omgerekend naar een effectwaarde bij een bepaalde hardheid van het water. De resulterende watertype specifieke soortgevoeligheids verdelingscurven staan in Figuur 12.



Figuur 12: Soortgevoeligheid verdelingscurve voor de negen verschillende watertypen op basis van totaal concentratie opgelost cadmium. De doorgetrokken lijn geeft de gefitte soortgevoeligheids verdelingscurven weer. De stippellijn geeft de HC_{50}-waarde aan. Het gearceerde oppervlak geeft het gebied weer waar 90% van de geobserveerde cadmiumconcentraties zich in 2003 bevonden. Op de meetlocaties Amsterdam, Eemmeerdijk, en Veluwemeer waren in 2003 de concentraties cadmium beneden de detectielimiet. De cadmiumconcentratie op deze locaties is aangegeven als de helft van de detectielimiet. Het interval waarin 90% van de waarnemingen zich bevinden kan voor deze locaties niet worden aangegeven.

In alle gevallen geeft de log-normale verdeling een goede beschrijving van de watertype specifieke NOECs.

HC_{50} & PAF

Met E_TX zijn de parameters gefit voor de watertype specifieke soortgevoeligheids verdelingscurven voor Cd. De parameters zijn gegeven in Tabel 22.

Tabel 22: Gefitte parameters van de log-normale verdeling zoals getoond in Figuur 12 en de berekende HC_{50} voor de watertype specifieke cadmium soortgevoeligheids verdelingscurven.

Watertype	Frequentie verdeling		HC_{50}	
	mean	st. dev.	mediaan	90% betrouwbaarheids interval
	Log Me [M]	[-]	Me [M]	Me [M]
Amsterdam	-7.30	0.61	4.99×10^{-8}	$3.46\times10^{-8} – 7.20\times10^{-8}$
Bovensluis	-7.36	0.61	4.36×10^{-8}	$3.02\times10^{-8} – 6.29\times10^{-8}$
Eemmeerdijk	-7.34	0.61	4.56×10^{-8}	$3.16\times10^{-8} – 6.58\times10^{-8}$
Eijsden	-7.41	0.61	3.90×10^{-8}	$2.70\times10^{-8} – 5.63\times10^{-8}$
Kampen	-7.39	0.61	4.03×10^{-8}	$2.80\times10^{-8} – 5.82\times10^{-8}$
Keizersveer	-7.40	0.61	3.95×10^{-8}	$2.74\times10^{-8} – 5.70\times10^{-8}$
Lobith	-7.16	0.61	6.95×10^{-8}	$4.82\times10^{-8} – 1.00\times10^{-7}$
Sas van Gent	-6.82	0.61	1.50×10^{-7}	$1.04\times10^{-7} – 2.16\times10^{-7}$
Veluwemeer	-7.29	0.61	5.12×10^{-8}	$3.55\times10^{-8} – 7.39\times10^{-8}$

Wanneer de soortgevoeligheids verdelingscurve van Figuur 12 wordt vergeleken met die van Figuur 4 dan valt op dat de vissen gevoeliger voor Cd worden wanneer de curve wordt gebaseerd op watertype afhankelijkheid. De gehele soortgevoeligheids verdelingscurve verschuift naar rechts, namelijk van gemiddeld –7.6 ongecorrigeerd voor biobeschikbaarheid naar –7.3 gecorrigeerd voor de watertype afhankelijke biobeschikbaarheid. Er is een flinke variatie te zien tussen de verschillende watertypen, tussen –6.82 en –7.34.

Het verschil tussen de watertype afhankelijke en niet op biobeschikbaarheid gecorrigeerde HC_{50} voor Cd verschilt een factor 1.7 tot 3.0 (zie Tabel 23), met wederom een uitschieter voor Sas van Gent (6.5).

Tabel 23: Vergelijking van de HC_{50} waarde ***ongecorrigeerd*** voor biobeschikbaarheid van cadmium en ***gecorrigeerd*** voor de biobeschikbaarheid van cadmium in de negen verschillende watertypen.

watertype	HC_{50} ongecorrigeerd	Watertype specifieke HC_{50}	specifieke HC_{50}/ HC_{50} ongecorrigeerd
	Cd_T [M]	Cd_T [M]	[-]
Amsterdam	2.30×10^{-8}	4.99×10^{-8}	2.2
Bovensluis	2.30×10^{-8}	4.36×10^{-8}	1.9
Eemmeerdijk	2.30×10^{-8}	4.56×10^{-8}	2.0
Eijsden	2.30×10^{-8}	3.90×10^{-8}	1.7
Kampen	2.30×10^{-8}	4.03×10^{-8}	1.8
Keizersveer	2.30×10^{-8}	3.95×10^{-8}	1.7
Lobith	2.30×10^{-8}	6.95×10^{-8}	3.0
Sas van Gent	2.30×10^{-8}	1.50×10^{-7}	6.5
Veluwemeer	2.30×10^{-8}	5.12×10^{-8}	2.2

4.3.6 Variatie PAF in de tijd

In de voorgaande paragrafen zijn de watertype specifieke soortgevoeligheids verdelingscurven en afgeleide PAFs berekend op basis van de jaargemiddelde concentraties van de metalen en macro-ionen. Hiermee wordt een representatief beeld van de gemiddelde situatie in een jaar gegeven. Wat deze berekeningen niet laten zien zijn de extremen die kunnen optreden binnen één jaar. Het zou kunnen zijn dat door een combinatie van factoren, lage DOC concentratie etc., op een zeker moment de biobeschikbaarheid van het metaal (substantieel) hoger is dan gemiddeld. Misschien is dit zelfs een seizoensgebonden effect.

In deze paragraaf wordt een eerste aanzet gegeven tot een analyse van de variatie van de biobeschikbaarheid met behulp van het BLM-raamwerk. Hiertoe zijn vanuit waterbase voor de locatie Lobith over het tijdvak 1 januari 1981 tot 31 december 1981 alle gemeten koperconcentraties en watereigenschappen geselecteerd. Dit tijdvak is gekozen vanwege de ruime beschikbaarheid van gemeten parameters. In deze periode zijn er 124 volledige datasets beschikbaar waarvoor alle benodigde gegevens beschikbaar zijn.

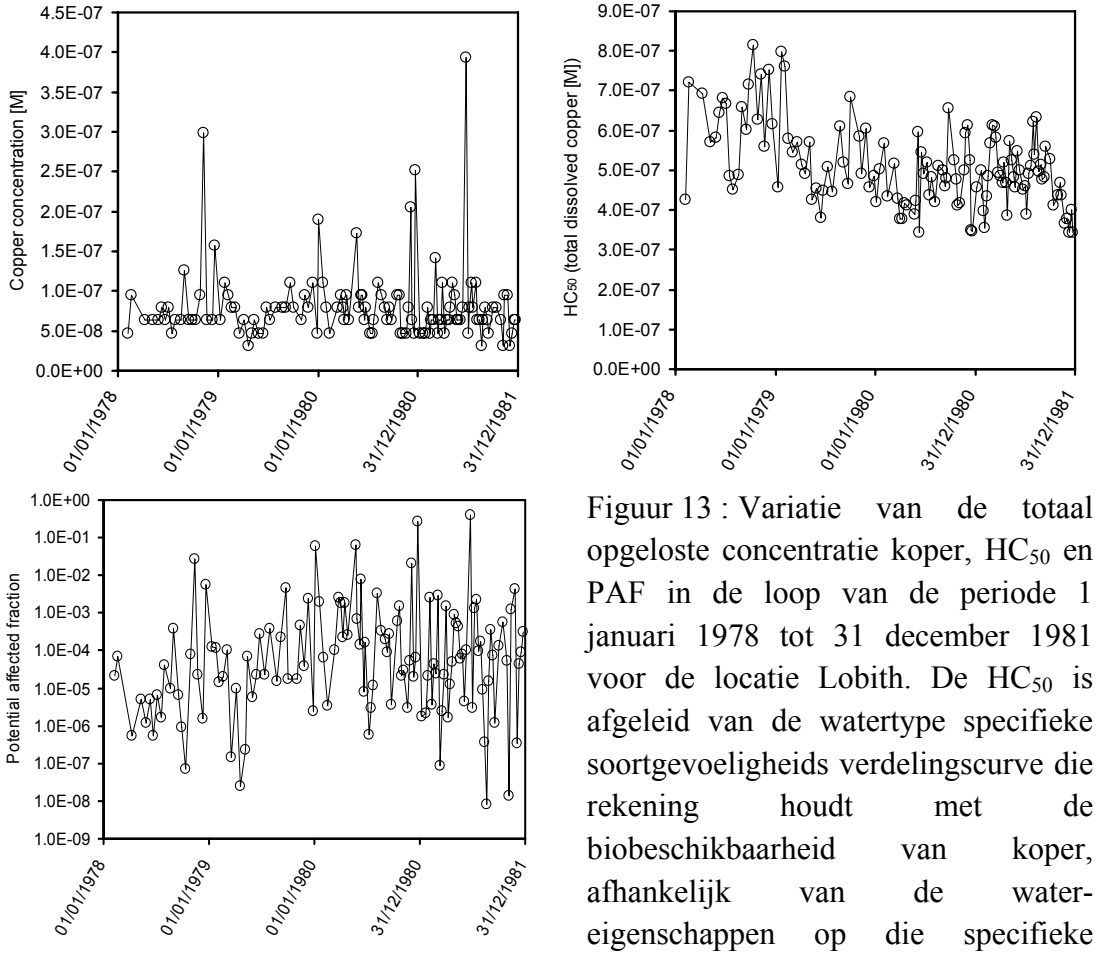
De gekozen periode is weliswaar geen recente maar de variabiliteit van de watereigenschappen en de invloed daarvan op de biobeschikbaarheid, zijn naar verwachting ook nu nog actueel. De gemeten koperconcentratie in het tijdvak 1 januari 1981 tot 31 december 1981 zijn niet representatief voor de actuele situatie. Deze zijn sindsdien gedaald (RIVM, 2004).

De berekening van de watertype specifieke NOECs is verricht zoals besproken in paragraaf 3.4. Vervolgens zijn 124 frequentie curven opgesteld en 124 HC_{50} waarden

afgeleid (voor elke datum één). Daarnaast zijn de frequentie curven en gemeten koperconcentraties gebruikt om de potentieel aangetaste fractie te berekenen.

In Figuur 13 zijn de gemeten opgeloste koperconcentratie, HC_{50} waarde en PAF in het tijdvak 1 januari 1978 tot 31 december 1981 als functie van de tijd geplot. De plot van totaal opgelost koper laat zien dat deze een grote variatie kent in de tijd. Het verschil tussen de laagste concentratie en de hoogste concentratie is een factor 12.5. De variatie van de biobeschikbaarheid in de loop van de tijd is een stuk geringer zoals te zien aan de verandering van de HC_{50} waarde in de tijd. Het verschil tussen de laagste en de hoogste HC_{50} waarde is een factor 2.3.

Met deze analyse kan nog niet worden gezegd of de biobeschikbaarheid gerelateerd is aan een seizoen, wel is de biobeschikbaarheid enigszins vergroot in het begin van het jaar, resulterend in een lagere HC_{50} waarde. De potentieel aangetaste fractie varieert enorm in de tijd. Door het sterk niet lineaire karakter van de log-normale verdeling betekent een kleine verandering in de HC_{50} waarde of de gemeten metaalconcentratie een grote verandering in de berekende potentieel aangetaste fractie.



Figuur 13 : Variatie van de totaal opgeloste concentratie koper, HC_{50} en PAF in de loop van de periode 1 januari 1978 tot 31 december 1981 voor de locatie Lobith. De HC_{50} is afgeleid van de watertype specifieke soortgevoeligheids verdelingscurve die rekening houdt met de biobeschikbaarheid van koper, afhankelijk van de water-eigenschappen op die specifieke datum.

5 Discussie

5.1 Inventarisatie BLMs

5.1.1 Alle BLMs

De parameter die de chronische effecten van de metalen het meest beïnvloed volgens de geïnventariseerde BLMs is de vrije koper-, zink-, activiteit. Voor koper is de DOC concentratie de parameter die vervolgens de meeste invloed heeft op deze vrije metaalactiviteit. In de onderzochte wateren is >99% van de totaal opgeloste hoeveelheid koper gebonden aan het DOC. Voor zink is de DOC concentratie een minder bepalende factor. Slechts 50 – 90% van het zink is aan het DOC gebonden. Andere factoren die volgens de BLMs een modererende invloed hebben op de chronische effecten van de metalen zijn Na^+-, Ca^{2+}-, Mg^{2+}- en H^+-concentratie, doordat deze ionen de binding van het koper, en zink aan het biotisch ligand beïnvloeden.

Er is geen chronisch Cd-BLM opgenomen in de Cd-RAR. Net zoals in het Cd-RAR document wordt in dit onderzoek het chronisch effect van Cd alleen gecorrigeerd voor de hardheid van het water. Speciatie van cadmium speelt (binnen zekere grenzen) geen rol in de effectbeoordeling van cadmium en wordt in het gehanteerde model impliciet constant verondersteld. Voor een metaal als cadmium dat in tegenstelling tot koper en zink veel minder affiniteit heeft voor andere liganden, behalve chloride, is dit een te verdedigen keuze. Wel wordt impliciet aangenomen dat binding van cadmium aan het biotisch ligand beïnvloed wordt door de Ca^{2+}- en Mg^{2+}-concentratie. Dat een hoge Ca^{2+}-concentratie beschermend werkt tegen de chronische toxiciteit van cadmium door competitie op het biotisch ligand is beschreven door Niyogi & Wood (2003). Samenvattend kan gezegd worden dat het relatief simpele Cd model wel onderbouwd wordt door mechanistische inzichten.

Nog twee andere modellen in deze studie zijn geen volledig BLM, namelijk de modellen voor de chronische effecten van Cu en Zn op algen Voor de beschrijving van de chronische effecten van koper en zink op algen zijn relaties afgeleid tussen de chronische effecten, uitgedrukt als vrije metaalactiviteit, en de pH van het medium. Er is in tegenstelling tot het cadmium wel expliciet rekening gehouden met de speciatie van koper en zink.

5.1.2 Het verschil tussen de metalen.

Het belang van de metaalbinding op de BL is gerelateerd aan de affiniteit van het metaal en het gemak waarmee het species vormt met andere liganden. Dit is te zien aan de enorme verschillen in de bindingssterkte van koper ($\log K \approx 8$) enerzijds en de bindingssterkte van zink aan het biotisch ligand anderzijds ($\log K \approx 5.5$).

Wijziging van de pH van een medium, terwijl alle andere factoren gelijk worden gehouden, heeft een flinke invloed op de waargenomen chronische effecten van koper. Wanneer alleen competitie tussen Cu^{2+} en H^+ op het biotisch ligand van invloed zou zijn zou er een lineaire relatie tussen waargenomen effect en H^+-concentratie moeten worden gevonden. Dit is niet het geval. Om het niet lineaire effect van de H^+-concentratie te kunnen modeleren is daarom is door De Schamphelaere *et al.* (2002) aangenomen dat ook de binding van de $CuOH^+$ en $CuCO_3^0$ species van belang is op het biotisch ligand. Ook voor zink wordt er een niet lineair H^+-effect waargenomen (Heijerick *et al.*, 2005; Deleebeeck *et al.*, 2005). Het lijkt dan ook logisch te veronderstellen dat $ZnOH^+$, $ZnCO_3^0$ species een rol kunnen spelen. In de huidige zink-BLMs zijn deze species nog niet meegenomen.

5.1.3 De verschillen van BLMs afgeleid uit USA onderzoek versus EU onderzoek.

BLMs en de bijbehorende modelparameters zijn in het Europese en Amerikaanse onderzoek gebaseerd op dezelfde theorieën. De constanten zoals afgeleid uit de Europese onderzoeken liggen veelal hoger dan de constanten afgeleid uit de onderzoeken uitgevoerd door de EPA. De specifieke verschillen zijn beschreven in de inventarisatie van de BLMs (zie paragraaf 4.1).

Over het algemeen zijn er enkele keuzes anders gemaakt tussen de Europese en Amerikaanse onderzoekers, waardoor er verschillen in de BLM modelparameters ontstaan. Een voorbeeld hiervan is dat de EU-BLMs gebruik maken van data afgeleid uit algen, daphnia's en vissen onderzoek. De binding aan het biotische ligand wordt veelal met behulp van een multiregressie benadering afgeleid. De EPA-BLM software maakt veelal gebruik van een daphnia model en een model voor twee verschillende vissen. Hierbij gaat men er vanuit dat de dichtheid van de Biotic Ligand in dezelfde orde van grootte ligt tussen alle organismen. De gevoeligheid (intrinsieke waarde) verschilt dan tussen de organismen.

Een ander groot verschil tussen de Europese en Amerikaanse onderzoekers, is dat de EU een acuut en chronische BLM (vaak op basis van experimenteel werk) afleidt, terwijl de EPA-BLMs op basis van acute BLM modellen zijn opgesteld. De chronische effectvoorspelling wordt dan gedaan door een factor 10 in te voegen. Hierdoor bevat de acute en chronische Cu-BLM in de EPA-versie een hardheid correctie, terwijl EU onderzoek uitwijst dat hardheid geen belangrijke beschrijvende parameter is voor chronische toxiciteit van koper (De Schamphelaere *et al.*, 2002; Markich *et al.*, 2005).

Een hardheidscorrectie is wel gebruikt voor het "corrigeren" van de Cd toxiciteitsgegevens zoals voorgesteld door de EPA (2001). Deze hardheidscorrectie wordt toegepast op alle toxiciteitsgegevens ongeacht de soort waarvoor de

effectwaarde is bepaald. Voor de Cd effectmodellering is er dus geen verschil tussen de Amerikaanse en Europese aanpak.

De acute Zn-BLM voor *Daphnia magna* (Heijerick *et al.*, 2002) is binnen de EU afgeleid op dezelfde wijze als de andere BLMs, namelijk met multivariate analyse. Er wordt niet op voorhand verondersteld dat het Zn en Cd effectmechanisme hetzelfde zijn. Binnen het EPA-programma is gekozen om de acute Zn-BLM consistent op te stellen met het Cd-BLM waarbij wordt aangenomen dat Zn en Cd op dezelfde liganden binden (Santore *et al.*, 2002).

Implicatie voor de Nederlandse situatie is dat de BLMs afgeleid van de acute toetsen voor voornamelijk Cu en Zn niet direct vertaalbaar zijn naar een chronische toxiciteitsbelasting (zoals wel in USA gebeurt).

5.2 Betrouwbaarheid van de berekeningen

5.2.1 Algemeen

Het voorspellen van de waargenomen chronische toxiciteit van Cu en Zn op algen, watervlooien en vissen gaat over het algemeen goed (zie bijvoorbeeld Figuur 8). Er is geen systematische onder- of overschatting van de waargenomen NOECs en veelal is de afwijking tussen waargenomen NOECs en voorspelde NOECs kleiner dan een factor twee. Alleen het BLM welke een beschrijving geeft van de chronische effecten van zink (Figuur 10) lijkt systematisch een te lage NOEC te voorspellen. Dit kan komen doordat in de voorspelling de $f_{\mathrm{ZnBL}}^{10\%}$ is gebruikt als surrogaat voor de $f_{\mathrm{ZnBL}}^{\mathrm{NOEC}}$, terwijl dit misschien niet gerechtvaardigd was.

Alhoewel de voorspelling van de waargenomen chronische toxiciteit gemiddeld gesproken goed is, zijn er enkele gevallen waarin het verschil tussen de waargenomen NOECs en voorspelde NOECs groter is dan een factor 2. Enkele factoren die kunnen leiden tot een afwijking tussen waargenomen NOECs en met behulp van BLMs voorspelde NOECs zijn onzekerheden in de anorganische speciatie, onzekerheden in de BLM bindingsconstanten en gebruik van BLMs buiten hun oorspronkelijke toepassingsdomein. Hieronder wordt in iets meer detail ingegaan op deze factoren.

5.2.2 Anorganische speciatie

De berekende vrije concentratie van de metalen is een cruciaal gegeven voor de effectvoorspelling van Cu en Zn indien gebruik gemaakt wordt van BLMs. Er zijn twee aspecten die van groot belang zijn wanneer we deze omrekening willen maken: beschikbaarheid van data en betrouwbaarheid van berekende vrije metaalactiviteit.

Er zijn een flink aantal gegevens nodig om de omrekening mogelijk te maken. Hierbij moet een afweging gemaakt worden tussen de kwaliteit van de gegevens en de beschikbaarheid van gegevens. In deze studie zijn we zoveel mogelijk uitgegaan van jaargemiddelde concentraties van de achtergrondionen en de totaal concentratie van het metaal in gefilterde samples. Als al deze gegevens afkomstig zijn uit 1 jaar, heb je een set van gegevens van de hoogste kwaliteit omdat er geen gebruik wordt gemaakt van extrapolatie/schatting om 'gaten' in de data op te vullen. Wij maken in deze studie – op goede gronden – gebruik van extrapolatie in de tijd. We veronderstellen dat in sommige gevallen de jaargemiddelde concentratie van een achtergrond ion gemeten in het verleden, ook in 2003 nog geldig is. Dit levert uiteindelijk voldoende data op om voor 9 locaties in de Rijkswateren de vrije metaalactiviteit uit te rekenen voor het jaar 2003.

Indien meer gebruik gemaakt zou zijn van extrapolatie/schatting, zou er voor meer locaties een effectvoorspelling gemaakt kunnen worden. Daarbij zou wel de kwaliteit van de data achteruitgaan. Mogelijke additionele extrapolaties (zonder volledig te willen zijn) zouden kunnen zijn:

- Gebruikmakend van de totaal metaalconcentratie, de gemeten concentratie gesuspendeerd materiaal en de bindingsconstante (K_p) van het metaal aan het gesuspendeerde materiaal kan de totaal opgeloste concentratie metaal geschat worden.
- Gebruikmakend van een vaste Ca/Mg verhouding zou de gemeten hardheid van het water naar een calcium- en magnesiumconcentratie omgerekend kunnen worden.

Een tweede aspect is de betrouwbaarheid van de berekende vrije metaalactiviteit. Zoals besproken in het voorgaande hoofdstukken, nemen we aan dat de speciatie van de metalen wordt bepaald door hydrolyse, vorming van complexen met carbonaat, chloride en sulfaat, en de binding met opgeloste organische stof. Omdat de eigenschappen van opgeloste organische stof zo enorm kunnen verschillen, is de inschatting van de binding aan opgeloste organische stof onzeker. Afhankelijk van de hoeveelheid opgeloste organische stof heeft dit meer of minder invloed op de berekende vrije activiteit van het metaalion.

Daarnaast kunnen er in het oppervlaktewater liganden aanwezig zijn, die niet in de berekening zijn meegenomen maar wel de vrije metaalactiviteit beïnvloeden. Vooral het eventueel voorkomen van metaalsulfide species, kan de vrije metaalconcentratie beïnvloeden (Al-Farawati & Van den Berg, 1999).

Voor het metaal koper is geverifieerd in hoeverre de gedefinieerde anorganische reacties en de DOC-koper binding de gemeten koper activiteit in een aantal samples kon voorspellen (Figuur 3). Hieruit bleek dat de voorspelling van de koperactiviteit in de meeste gevallen binnen een factor 4 correct was.

5.2.3 Bindingsconstanten biotisch ligand model

BLM parameters worden gecalibreerd met behulp van literatuur dan wel experimenteel. Evenwichtsconstanten voor bijvoorbeeld proton- en metaal-ligand-complexen, alsmede de liganddichtheid, zijn dan ook valide in ranges van condities. Ondanks dat de theorie van het BLM gebaseerd is op het mechanisme van metaaltoxiciteit bij kieuwhoudende organismen, is het extrapoleren naar andere soorten een uitgebreide empirische regressie. Hierbij gelden de gebruikelijke beperkingen van regressies, waarbij parameters die niet significant zijn op de initiële toxische stress bij niet-kieuwhoudende organismen wel een rol spelen.

5.2.4 Toepassingsgebied van de BLMs

Van een andere orde is de betrouwbaarheid van een BLM geëxtrapoleerd naar omstandigheden buiten de toetsingsrange. In de praktijk is niet vooraf aan een experiment bekend welke parameters relevant zijn bij welke omstandigheden.

Voor het hier beschreven onderzoek naar het toepassen van BLMs in Nederlandse oppervlaktewateren, zijn Rijkswateren geselecteerd. De onderzochte Rijkswateren hebben een hoge pH (7.5 – 8.5), een hoge water hardheid (194 – 1194 mg $CaCO_3.L^{-1}$) en een hoge alkaliniteit (206 – 468 mg $CaCO_3.L^{-1}$). Juist de hoge alkaliniteit van de Rijkswateren valt vaak enigszins buiten het toepassingsdomein van de BLMs.

- De Cu BLMs hebben een veel groter bereik en zijn toepasbaar tot een alkaliniteit van 350 - 450 mg $CaCO_3.L^{-1}$. De Cu BLMs zijn in de meeste gevallen geschikt voor de negen watertypen in deze studie.
- De Zn BLMs zijn geschikt voor wateren met een pH van 6 tot 8 en een calciumconcentratie van 5 tot 160 $mg.L^{-1}$. De pH van het water bij Eemmeerdijk, Kampen en Veluwemeer hebben een pH die iets hoger is dan 8.
- Het Cd model is geschikt voor wateren met een hardheid die uiteenloopt van 44 – 209 mg $CaCO_3.L^{-1}$. De hardheid van het water van Lobith en Sas van Gent is veel hoger dan het bereik van het Cd model.

Samengevat kan worden gezegd dat de watersamenstelling de geselecteerde wateren in veel gevallen enigszins of zelfs fors buiten het toepassingsdomein van de BLMs vallen. In sommige gevallen is bekend dat de voorspelling gedaan door een BLM sterk verslechtert wanneer het buiten het geverifieerde toepassingsdomein wordt gebruikt, bijvoorbeeld het Zn model voor *Daphnia magna* (De Schamphelaere *et al*., 2005b).

5.3 Vergelijking gecorrigeerde en niet-gecorrigeerde effectconcentraties

5.3.1 De verschuiving van NOECs en SSDs

Het meenemen van de biobeschikbaarheid door middel van BLM modellering leidt soms tot lagere en soms tot hogere NOECs (zie paragraaf 4.3) op de negen verschillende locaties. De watertype afhankelijke Cu-NOECs voor algen en daphnids zijn lager dan de ongecorrigeerde NOECs. De Zn resultaten geven verschillende resultaten, namelijk voor de algen zijn de watertype afhankelijke NOECs lager en voor daphnids en vissen is de NOEC hoger.

De watertype afhankelijke soortgevoeligheids verdelingscurven verschuiven voor Cd naar rechts. Dat wil zeggen dat de gemiddelde gevoeligheid van de soorten waarvoor deze curve is geplot, namelijk algen, daphnids en vissen, vermindert. Voor Cu en Zn is het tegenovergestelde gevonden en verschuift de curve naar links.

Of de gecorrigeerde NOECs hoger of lager uitvallen dan de ongecorrigeerde NOECs is afhankelijk van het verschil in de biobeschikbaarheid van het metaal in de toxiciteitstest versus de locatiespecifieke biobeschikbaarheid van het metaal. Indien alle NOECs waren gemeten in een testmedium zonder DOC en hele lage macro-ion concentraties (dus heel hoge biobeschikbaarheid) zouden deze NOECs omgerekend naar de watereigenschappen van natuurlijke wateren waarschijnlijk allemaal hoger uitvallen omdat de biobeschikbaarheid van metalen in natuurlijke wateren over het algemeen veel lager is.

In dit rapport hebben de geselecteerde toxiciteitstesten een verschillende oorsprong. Soms zijn de toxiciteitstesten gemeten in een medium met een lage metaal biobeschikbaarheid of juist gemeten in een medium met een hoge biobeschikbaarheid. Dat de biobeschikbaarheid van de metalen in de toxiciteitstesten zeer verschillend is, is deels te zien in de figuren waarin de waargenomen NOECs als functie van de ‘environmental moderator’ zijn geplot, zie bijvoorbeeld Figuur 6 en Figuur 10. Het is dan ook niet verwonderlijk dat de gecorrigeerde HC_{50} soms lager en soms hoger uitvalt dan de HC_{50} op basis van de ongecorrigeerde NOECs.

De verschuiving van de HC_{50} zegt vooral iets over de gemiddelde verschuiving van de frequentie curve door het meenemen van de biobeschikbaarheid van de metalen. Als de HC_{50} waarde hoger wordt wil dat niet direct zeggen dat de HC_5 waarde ook hoger wordt. Deze situatie doet zich bijvoorbeeld voor bij zink. De HC_{50} waarde wordt iets hoger maar doordat de voor biobeschikbaar gecorrigeerde NOECS voor algen lager worden zal de HC_5 20 – 50% lager uitvallen.

5.3.2 Het gebruik van PAF

De toxiciteitsgegevens zijn geselecteerd voor het zichtbaar maken van het effect van het gebruik van BLMs op de soortgevoeligheids verdelingscurven (zie paragraaf 4.3). Met deze reden werden dan ook een beperkt aantal soorten, overgenomen uit de BLM publicaties (m.n. *Daphnia magna*, *Pseudokirchneriella subcapitata*, en *Oncorhynchus mykiss*). Dit houdt in dat de soortgevoeligheids verdelingscurven zijn berekend los van de twee hoofdcriteria die liggen onder het PAF-principe voor effecten afleiding voor de Nederlandse normstelling. Deze criteria zijn namelijk of 1) frequenties berekenen op basis van geselecteerde toxiciteitsgegevens die representatief zijn voor de soorten voorkomend in de Nederlandse wateren, of 2) frequenties berekenen op basis van zoveel mogelijk toxiciteitsgegevens van verschillende soorten.

De uitwerking van BLMs voor de implementatie naar normstelling is buiten de doelstelling van het rapport. Het rapporteren van een verschuiving van de HC_{50} waarde op basis van het BLM raamwerk, zoals in dit rapport, duidt er echter op dat het meenemen van biobeschikbaarheid kan leiden tot een gewijzigde normstelling. Op basis van de kennis uit dit rapport is het uiteindelijk goed mogelijk om te kwantificeren wat het effect is van het gebruik van de BLMs op de normstelling van de drie metalen in het Nederlandse oppervlaktewater.

5.3.3 Watertype en tijdsafhankelijke effectvoorspelling

In paragraag 4.3.8. valt verder te zien dat variatie van biobeschikbare metaal gehalten in de tijd invloed heeft op de potentieel aangetaste fractie. Ondanks dat deze pilotstudie laat zien dat er kanttekeningen te plaatsen zijn bij het implementeren van de metalen BLMs, is er een sterke meerwaarde voor risico-inschatting mogelijk. Effecten worden nu locatiespecifiek en dynamisch in de tijd in beeld gebracht. Waarbij watereigenschappen worden meegenomen in het doorrekenen van de toxische belasting op de waterorganismen. De BLMs (op basis van speciatie en ecotoxicologische kennis) kunnen verfijnde inschatting van ecologische effecten geven.

Referenties

Aldenberg T. & Jaworska J.S. (2000) Uncertainty of the hazardous concentration and fraction affected for normal species sensitivity distributions. *Ecotox. Environ. Safe.* **46**, 1-18.

Alsop D.H. & Wood C.M. (2000) Kinetic analysis of zinc accumulation in the gills of juvenile rainbow trout: effects of zinc accumulation and implications for biotic ligand modelling. *Env. Toxicol. Chem.* **19**, 1911-1981.

Bertram P.E. & Hart B.A. (1979) Longevity and reproduction of Daphnia pulex (de Geer) exposed to cadmium-contaminated food or water. *Environ. Pollut.* **19**, 295-305.

Biesinger K.E. & Christensen G.M. (1972) Effects of various metals on survival, growth, reproduction and metabolism of Daphnia magna. *J. Fish. Res. Board Can.* **29**, 1691-1700.

Bodar C.W.M., Van der Sluis I. & Voogt P.A. (1988). Effects of cadmium on consumption, assimilation and biochemical parameters of Daphnia magna: possible implications for reproduction. *Comp. Biochem. Phys. C* **90**, 341-346.

Bresch H. (1982) Investigation of the long-term action of xenobiotics on fish with special regard to reproduction. *Ecotox. Environ. Safe.* **6**, 102-112.

Bringmann G. & Kühn R. (1980) Comparison of the toxicity thresholds of water pollutants to bacteria, algae and protozoa in the cell multiplication test. *Water Res.* **14**, 231-241.

Bryan S.E., Tipping E. & Hamilton-Taylor J. (2002) Comparison of measured and modelled copper binding by natural organic matter in freshwaters. *Comp. Biochem. Phys. C* **133**, 37-49.

Canton J.H. & Slooff W. (1982) Toxicity and accumulation studies of cadmium (Cd^{2+}) with freshwater organisms of different trophic levels. *Ecotox. Environ. Safe.* 6, 113-128.

Chapman G.A. (1978) Toxicities of cadmium, copper and zinc to four juvenile stages of chinook salmon and steelhead. *T. Am. Fish. Soc.* **107**, 841-847.

Cheng T., De Schamphelaere K., Lofts S., Janssen C. & Allen H.E. (2005) Measurement and computation of zinc binding to natural dissolved organic matter in European surface waters. *Anal. Chim. Acta* **542**, 230-239.

Conway H.L. & Williams S.C. (1979) Sorption of Cd and its effect on growth and the utilization of inorganic carbon and phosphorus of two freshwater diatoms. *J. Fish. Res. Board Can.* **36**, 579-586.

Dave G., Andersson K., Berglind R. & Hasselrot B. (1981) Toxicity of eight solvent extraction chemicals and of cadmium to water fleas, Daphnia magna, rainbow trout, Salmo gairdneri, and zebrafish, Brachydanio rerio. *Comp. Biochem. Phys. C* **69**, 83-98.

De Schamphelaere K.A.C., Heijerick D.G. & Janssen C.R. (2002) Refinement and field validation of a biotic ligand model predicting acute copper toxicity to Daphnia magna. *Comp. Biochem. Phys. C* **133,** 243-258.

De Schamphelaere K.A.C., Vasconcelos F.M., Heijerick D.G., Tack F.M.G., Delbeke K., Allen H.E. & Janssen C.R. (2003) Development and field validation of a predictive copper toxicity model for the green alga Pseudokirchneriella Subcapitata *Environ. Toxicol. Chem.* **22**(10)2454-2465.

De Schamphelaere K.A.C. & Janssen C.R. (2002) A biotic ligand model predicting acute copper toxicity to Daphnia magna: the effects of calcium, magnesium, sodium, potassium and pH. *Environ. Sci. Technol.* **36**, 48-84.

De Schamphelare K.A.C. & Janssen C.R. (2004a) Effects of dissolved organic carbon concentration and source, pH and water hardness on chronic toxicity of copper to Dahpnia Magna. *Environ. Toxicol. Chem.* **23**(5)1115-1122.

De Schamphelaere K.A.C. & Janssen C.R. (2004b) Development and field validation of a biotic ligand model predicting chronic copper toxicity to *Daphnia magna*. *Environ. Toxicol. Chem.* **23**(6)1365-1375.

De Schamphelaere K.A.C. & Janssen C.R. (2004c) Bioavailability and chronic toxicity of zinc to juvenile rainbow trout (Oncorhynchus mykiss): comparison with other fish species and development of a biotic ligand model. *Environ. Sci. Technol.* **38**, 6201-6209.

De Schamphelaere K.A.C, Stauber J.L., Wilde K.L., Markich S.J., Brown P.L., N.M. Franklin, Creighton N.M. & Janssen C.M. (2005a) Toward a Biotic Ligand Model for freshwater algae: surface-bound and internal copper are better predictors of toxicity than free Cu^{2+}-ion activity when pH is varied. *Environ. Sci. Technol.* **39**, 2067-2072.

De Schamphelaere K.A.C., Lofts S. & Janssen C.R. (2005b) Bioavailability models for predicting acute and chronic toxicity of zinc to algae, daphnids, and fish in natural waters. *Environ. Toxicol. Chem.* **24**(5)1190-1197.

Di Toro, D.M., Allen H.E., Bergman H.L., Meyer J.S., Santore R.C. & Paquin P. (2000) The biotic ligand model: a computational approach for assessing the ecological effects of copper and other metals in aquatic systems. International Copper Association Ltd. New York. isbn 0-943642-12-9.

Eaton J.G., McKim J.M. & Holcombe G.W. (1978) Metal toxicity to embryos and larvae of seven fresh water fish species - I Cadmium. *B. Environ. Contam. Tox.* **19**, 95-113.

Elnabarawy M.T., Welter A.N. & Robideau R.R. (1986) Relative sensitivity of three Daphnid species to selected organic and inorganic chemicals. *Environ. Toxicol. Chem.* **5**, 393-398.

EPA (2001) Update of ambient water quality criteria for cadmium. United States Environmental Protection Agency. Washington D.C. Report no EPA-822-R-01-001, April 2001

EPA (2003) 2003 Draft update of ambient water quality criteria for copper. United States Environmental Protection Agency. Washington D.C. Report No EPA 822-R-03-026, November 2003.

Erickson R.J., Benoit D.A., Mattson V.R., Nelson Jr. H.P., Leonard E.N. (1996) The effects of water chemistry on the toxicity of copper to fathead minnows. *Environ. Toxicol. Chem.* 15, 181-193.

EU (2003) Risk assessment cadmium oxide, cadmium metal. Final draft sections 0 to 3 July 2003.

EU (2004) Risk assessment zinc metal, part 1 environment, draft January 2004.

EU (2005) EU risk assessment copper, draft 5 May 2005.

Guthrie J.W., Hassan N.M., Salam M.S.A., Fasfous I.I., Murimboh C.A., Chakrabarti C.L. & Grégoire D.C. (2005) Complexation of Ni, Cu, Zn, and Cd by DOC in some metal-impacted freshwater lakes: a comparison of approaches using electrochemical determination of free-metal-ion and labile complexes and a computer speciation model, WHAM V and WHAM VI. *Anal. Chim. Acta* **528**, 205-218.

Hamers T ; Aldenberg T & Van de Meent D. (1996) Definition Report - Indicator Effects Toxic Substances (I_{tox}) RIVM Rapport 607128001. Rijksinstituut voor Volksgezondheid en Milieu, Bilthoven.

Heijerick D.G., De Schamphelaere K.A.C. & Janssen C.R. (2002a) Biotic ligand model development predicting Zn toxicity to the alga Pseudokirchneriella subcapitata: possibilities and limitations *Comp. Biochem. Phys. C* **133**, 207-218.

Heijerick D.G., De Schampelaere K.A.C., & Janssen C.R. (2002b) Predicting acute zinc toxicity for Daphnia Magna as a function of key water characteristics: development and validation of a biotic ligand model *Environ. Toxicol. Chem.* **21**, 1309-1315.

Heijerick D.G., De Schamphelaere K.A.C., Van Sprang P.A. & Janssen C.R. (2005) Development of a chronic zinc biotic ligand model for Daphnia magna. *Ecotox. Environ. Safe.* **62**, 1-10.

Holcombe G.W., Phipps G.L. & Marier J.W. (1984) Methods for conducting snail (Aplexa hypnorum) embryo through adult exposures: effects of Cd and reduced pH levels. *Arch. Environ. Con. Tox.* **13**, 627-634.

Ingersoll C. & Kemle N. (2000) Methods development for long-term sediment toxicity tests with the amphipod Hyalella azteca and the midge Chironomus tentans. Study conducted by U.S. Geological Survey Columbia Environmental Research Centre in Columbia Missouri for EPA.

Jop K.M., Askew A.M. & Foster R.B. (1995) Development of a water-effect ratio for copper, cadmium, and lead for the Great Works River in Maine using Ceriodaphnia dubia and Salvelinus fontinalis. *B. Environ. Contam. Tox.* **54**, 29-35.

Knowles C.O. & McKee M.J. (1987) Protein and nucleic acid content in Daphnia magna during chronic exposure to cadmium. *Ecotox. Environ. Safe.* **13**, 290-300.

Kühn R., Pattard M., Pernak K.D. & Winter A. (1989) Results of the harmful effects of water pollutants to Daphnia magna in the 21 day reproduction test. *Water Res.* **23**, 501-510.

Lawrence S.G., Holoka M.H. & Hamilton R.D. (1989) Effects of cadmium on a microbial food chain, Chlamydomonas reinhardii and Tetrahymena vorax. *Sci. Total Environ.* **87/88**, 381-395.

LISEC (1998) Alga, growth inhibition test effect of cadmium on the growth of Selenastrum capricornutum. Draft report, 22pp.

Markich S.J., Batley G.E., Stauber J.L., Rogers N.J., Apte S.C., Hyne R.V., Bowles K.C., Wilde K.L. & Creighton N.M. (2005) Hardness corrections for copper are inappropriate for protecting sensitive freshwater biota. *Chemosphere* **60**, 1-8.

Marshall J.S. (1978) Population dynamics of Daphnia galeata mendotae as modified by chronic Cd stress. *J. Fish. Res. Board Can.* **35**: 461-469.

Martell A.E., Smith R.M. & Motekaitis R.J. (1997) *Critical Stability constants of metal complexes database, version 4.0. NIST standard reference database 46*. National Institute of Standards and Technology, Gaithersburg, MD.

Meyer J.S., Santore R.C., Bobbitt J.P., DeBrey L.D., Boese C.J., Paquin P.R., Allen H.E., Bergman H.L. & Di Toro D.M. (1999) Binding of nickel and copper to fish gills predicts toxicity when water hardness varies, but free-ion activity does not. *Environ. Sci. Technol.* **33** ,913-916.

Morel, F.M. (1983) Complexation: trace metals and microorganisms. Principles of Aquatic Chemistry.

Müller K.W. & Payer H.D. (1979). The influence of pH on the cadmium-repressed growth of the alga Coelastrum proboscideum. *Physiol. Plantarum* **45**, 415-418.

Nasu Y. & Kugimoto M. (1981) Lemna (Duckweed) as an indicator of water pollution. I. The sensitivity of Lemna paucicostata to heavy metals. *Arch. Environ. Con. Tox.* **10**, 159-169.

Niyogi S. & Wood C.M. (2003) Effects of chronic waterborne and dietary metal exposures on gill metal-binding: implications for the biotic ligand model. *Hum. Ecol. Risk Assess.* **9**(4)813-846.

Pagenkopf G.K. (1983) Gill surface interaction model for trace-metal toxicity to fishes: role of complexation, pH, and water hardness. *Environ. Sci. Technol*. **17**, 342-347.

Paquin, P.R., Gorsuch J.W., Apte S., Batley G.E., Bowles K.C., Campbell P.G.C., Delos C.G., Di Toro D.M., Dwyer R.L., Galvez F., Gensemer R.W., Gos G.G. s, Hogstrand C., Janssen C.R., McGeer J.C., Naddy R.B., Playle R.C., Santore R.C., Schneider U., Stubblefield W.A., Wood C.M. & Wu K.B. (2002) The biotic ligand model: a historical overview. *Comp. Biochem. Phys. C* **133**(1-2), 3-35.

Playe R.C., Dixon D.G. & Burnison K. (1993) Copper and cadmium binding to fish gills: estimates of metal-gill stability stability constants and modelling of metal accumulation. *Can J Fish Aquat Sci* **50**, 2678-2687.

Posthuma L., Suter II G.W. & Traas T.P. (2002) Species sensitivity distributions in ecotoxicology. CRC Press, isbn 1-56670-578-9.

RIZA (2004) MWTL Monitoring zoete rijkswateren, meetplan 2004. RIZA, afdeling informatie en meettechnologie meetnetten. werkdocumentnummer: 2003.171X, versie 2.

RIVM (2004) Van inzicht naar doorzicht, Beleidsmonitor water, thema chemische kwaliteit van oppervlaktewater. rapportnummer 500799004, isbn 90-6960-112-5, MNP - RIVM, Bilthoven.

Santore R.C., Di Toro D.M., Paquin P.R., Allen H.E. & Meyer J.S. (2001) Biotic ligand model of the acute toxicity of metals. 2. Application to acute copper toxicity in freshwater fish and Daphnia. *Environ. Toxicol. Chem.* **20**(10) 2397-2402.

Santore R.C., Mathew R., Paquin P.R & Di Toro D. (2002) Application of the biotic ligand model to predicting zinc toxicity to rainbow trout, fathead minnow, and Daphnia magna. *Comp. Biochem. Phys. C.* **133**(1-2), 271-285.

Spehar R.L. (1976). Cadmium and Zinc toxicity to flagfish, Jordanella floridae. *J. Fish. Res. Board Can.* **33**, 1939-1945.

Spehar R.L., Anderson R.L. & Fiandt J.T. (1978) Toxicity and bioaccumulation of Cd and Pb in aquatic invertebrates. *Environ. Pollut.* **15**, 195-208.

Sijm D., Lijzen J., Peijnenburg W., Sneller E., Traas T. & Verbruggen E. (2002) Biobeschikbaarheid in beleid, wat er aan vooraf ging en wat nog komt. Resultaten van een workshop en het beleidsvervolg. Bilthoven, the Netherlands: RIVM 607220006/2002.

Slaveykova V.I. & Wilkinson K.J. (2005) Predicting the bioavailability of metals and metal complexes: critical review of the biotic ligand model. *Environ. Chem.* **2**, 9-24.

Suter II G.W., Traas T.P. & Posthuma L. (2002) Issues and practices in the derivation and use of species sensitivity distributions In: Posthuma L., Suter II G.W., Traas T.P. (2002) *Species sensitivity distributions in ecotoxicology*. CRC Press, isbn 1-56670-578-9.

Tipping E. (1994) WHAM – a chemical equilibrium model and computer code for waters, sediments and soils incorporating a discrete site/electrostatic model of ion-binding by humic substances. *Comp. Geosci*. **20**, 973-1023.

Tipping E. (1998) Humic Ion-Binding Model VI: An improved description of the interactions of protons and metal ions with humic substances. *Aquat. Geochem.* **4**, 3-48.

Traas T.P., Van de Meent D., Posthuma L., Hamers T., Kater B.J., De Zwart D. & Aldenberg T. (2002) The potentially affected fraction as a measure of ecological risk. In: Posthuma L., Suter II G.W., Traas T.P. (2002) *Species sensitivity distributions in ecotoxicology*. CRC Press, isbn 1-56670-578-9.

Van de Meent D. (1999) Potentieel Aangetaste Fractie als maatlat voor toxische druk op ecosystemen. RIVM rapport 607504007 Rijksinstituut voor Volksgezondheid en Milieu, Bilthoven.

Van Leeuwen C.J., Luttmer W.J., Griffioen P.S. (1985) The use of cohorts and populations in chronic toxicity studies with Daphnia magna: a cadmium example. *Ecotox. Environ. Safe.* **9**, 26-39.

Van Vlaardingen P.L.A., Traas T.P., Wintersen A.M. & Aldenberg T. (2004) E_TX 2.0. A program to calculate hazardous concentrations and fraction affected, based on normally distributed toxicity data. Bilthoven, the Netherlands: National Institute for Public Health and the Environment (RIVM). Report no. 601501028/2004, 68 pp.

Villavicencio G., Urrestarazu P., Carvajal C., De Schamphelaere K.A.C., Janssen C.R., Torres J.C. & Rodriguez P.H. (2005) Biotic ligand model prediction of copper toxicity to daphnids in a range of natural waters in Chile *Environ. Toxicol. Chem.* **24**(5)1287-1299.

VROM & VW (2004) Regeling milieukwaliteitseisen gevaarlijke stoffen oppervlaktewateren. Regeling van de Staatssecretaris van Volkshuisvesting, Ruimtelijke Ordening en Milieubeheer en van de minister van Verkeer en Waterstaat van 10 december 2004, nr. MJZ2004128920, Directie juridische zaken/Afdeling Wetgeving.

Waiwood K.G. & Beamish F.W.H. (1978) The effect of copper, hardness and pH on the growth of rainbow trout, Salmo gairdneri. *J. Fish Biol.* **13**, 591-598.

Winner R.W. (1988) Evaluation of the relative sensitivities of 7-D Daphnia magna and Ceriodaphnia dubia toxicity tests for cadmium and sodium pentachlorophenate. *Environ. Toxicol. Chem.* **7**, 153-159.

Appendix A: Complexatie reacties macro-ionen

Naast de complexatie reacties van koper, zink en cadmium vormen de macro-ionen ook diverse complexen. Ook deze reacties zijn meegenomen in de BLMs. De reacties en bijbehorende evenwichtsconstanten staan vermeld in Tabel 24. De evenwichtsconstanten zijn overgenomen uit de NIST database (Martell *et al.*, 1997).

De activiteitscorrectie is uitgerekend volgens Davies. Deze methodiek is geldig tot een ionsterkte van ongeveer 0.3M.

Tabel 24: Anorganische species van de macro-ionen meegenomen in de berekening van de speciatie in oppervlaktewater.

complexatie reactie	Evenwichtsconstante[a]
$CO_3^{2-} + H^+ \rightarrow HCO_3^-$	log K = 10.329
$CO_3^{2-} + 2H^+ \rightarrow H_2CO_3$	log K = 16.681
$Mg^{2+} + H^+ + CO_3^{2-} \rightarrow MgHCO_3$	log K = 11.339
$Mg^{2+} + CO_3^{2-} \rightarrow MgCO_3$	log K = 2.92
$Mg^{2+} + SO_4^{2-} \rightarrow MgSO_4$	log K = 2.26
$Ca^{2+} + H^+ + CO_3^{2-} \rightarrow CaHCO_3$	log K = 11.599
$Ca^{2+} + CO_3^{2-} \rightarrow CaCO_3$	log K = 3.20
$Ca^{2+} + SO_4^{2-} \rightarrow CaSO_4$	log K = 2.36

[a] Evenwichtsconstanten overgenomen uit de NIST database (Martell *et al.*, 1997).

Appendix B: Mathematische beschrijving van het Biotic Ligand Model

In deze appendix wordt in meer detail een mathematische beschrijving gegeven van het biotisch ligand model. Hierbij volgen wij de nomenclatuur zoals geïntroduceerd door De Schamphelaere & Janssen (2002). Als voorbeeld geven wij de afleiding van het biotisch ligand model dat de chronische effecten van zink op *Daphnia magna* beschrijft. Juist dit BLM is gekozen als illustratie van de afleiding van de vergelijkingen omdat het een van de eenvoudigere BLM modellen is.

In het BLM dat de chronische effecten van zink op *Daphnia magna* beschrijft wordt aangenomen dat Ca, Mg, Na en H-ionen competitie aangaan met Zn voor dezelfde bindingsplaatsen op het biotisch ligand. Deze competitiereacties kunnen geschreven worden als:

$$BL^- + Zn^{2+} \xrightarrow{K_{ZnBL}} ZnBL^+ \quad (B.1)$$

$$BL^- + Ca^{2+} \xrightarrow{K_{CaBL}} CaBL^+ \quad (B.2)$$

$$BL^- + Mg^{2+} \xrightarrow{K_{MgBL}} MgBL^+ \quad (B.3)$$

$$BL^- + Na^+ \xrightarrow{K_{NaBL}} NaBL \quad (B.4)$$

$$BL^- + H^+ \xrightarrow{K_{HBL}} HBL \quad (B.5)$$

waarbij BL^- een potentiële bindingsplaats is op het biotisch ligand die nog onbezet is. ZnBL, CaBL, MgBL, NaBL en HBL zijn bindingsplaatsen op het biotisch ligand die bezet zijn met Zn, Ca, Mg, Na en H respectievelijk. Alle biotisch ligand species worden behandeld alsof zij uniform verdeeld zijn in het medium. De binding van de kationen aan het biotisch ligand wordt ***niet*** beschreven als een oppervlakteadsorptie model. We nemen vooralsnog aan dat de lading van de bindingsplaats op het biotisch ligand -1 is. De keuze van de lading doet er in het huidige model niet toe. Dit wordt anders wanneer het biotisch ligand als oppervlakteadsorptiemodel wordt beschreven. Dan worden ladingsaspecten zeer belangrijk.

De evenwichtsvergelijkingen voor de binding van de kationen aan de bindingsplaatsen (BL^-) kunnen geschreven worden als:

$$K_{ZnBL} = \frac{[ZnBL^+]}{(Zn^{2+})[BL^-]} \quad (B.6)$$

waarbij K_{ZnBL} de stabiliteitsconstante voor Zn^{2+}-adsorptie aan het biotisch ligand is en (Zn^{2+}) de activiteit van het vrij zink ion ($L.mol^{-1}$) is. De concentratie van de biotisch ligand species [BL^-] en [$ZnBL^+$] worden niet gecorrigeerd voor ionsterkte. Op dezelfde manier kunnen de andere vier evenwichtsvergelijkingen geschreven worden als:

$$K_{CaBL} = \frac{[CaBL^+]}{(Ca^{2+})[BL^-]} \quad \text{(B.7)}$$

$$K_{MgBL} = \frac{[MgBL^+]}{(Mg^{2+})[BL^-]} \quad \text{(B.8)}$$

$$K_{NaBL} = \frac{[NaBL]}{(Na^+)[BL^-]} \quad \text{(B.9)}$$

$$K_{HBL} = \frac{[HBL]}{(H^+)[BL^-]} \quad \text{(B.10)}$$

Het totaal aantal bindingsplaatsen op het biotisch ligand wordt de complexatiecapaciteit van het biotisch ligand (CC_{BL}) genoemd. De massabalans voor het biotisch ligand kan geschreven worden als:

$$CC_{BL} = [ZnBL^+] + [CaBL^+] + [MgBL^+] + [NaBL] + [HBL] + [BL^-] \quad \text{(B.11)}$$

waarbij CC_{BL} the complexatiecapaciteit is van het biotisch ligand in $mol.L^{-1}$.

De concentratie van zink gebonden aan het biotisch ligand, wat volgens het BLM raamwerk het toxisch effect niveau bepaald, kan nu uitgedrukt worden als functie van (Zn^{2+}), (Ca^{2+}), (Mg^{2+}), (Na^+) en (H^+) door combinatie van vergelijking B.6 – B.11:

$$[ZnBL^+] = \frac{K_{ZnBL} \cdot (Zn^{2+}) \cdot (CC_{BL})}{1 + K_{ZnBL} \cdot (Zn^{2+}) + K_{CaBL} \cdot (Ca^{2+}) + K_{MgBL} \cdot (Mg^{2+}) + \ldots \ldots K_{NaBL} \cdot (Na^+) + K_{HBL} \cdot (H^+)} \quad \text{(B.12)}$$

Aannemende dat de complexatie capaciteit onafhankelijk is van de eigenschappen van het oppervlaktewater kan de fractie van het biotisch ligand bezet met zink (f_{ZnBL}) geschreven worden als:

$$f_{ZnBL} = \frac{[ZnBL^+]}{CC_{BL}} \quad \text{(B.13)}$$

Vergelijking B.13 volledig uitschrijven geeft:

$$f_{ZnBL} = \frac{K_{ZnBL} \cdot (Zn^{2+})}{1 + K_{ZnBL} \cdot (Zn^{2+}) + K_{CaBL} \cdot (Ca^{2+}) + K_{MgBL} \cdot (Mg^{2+}) + \ldots \ldots K_{NaBL} \cdot (Na^+) + K_{HBL} \cdot (H^+)} \quad \text{(B.14)}$$

Deze fractie bepaald volgens het BLM raamwerk het toxisch effect niveau. Deze fractie is dus constant voor alle waarnemingen bij eenzelfde effect niveau ongeacht de watereigenschappen waarin de toxiciteit wordt gemeten. Bij een 50% effect niveau ($EC_{50,Zn^{2+}}$) kan vergelijking B.14 herschreven worden als:

$$EC_{50,Zn^{2+}} = \frac{f_{ZnBL}^{50\%}}{1 - f_{ZnBL}^{50\%}} \times \ldots \ldots \frac{1 + K_{CaBL} \cdot (Ca^{2+}) + K_{MgBL} \cdot (Mg^{2+}) + K_{NaBL} \cdot (Na^{+}) + K_{HBL} \cdot (H^{+})}{K_{ZnBL}} \quad \text{(B.15)}$$

hierin is $EC_{50,Zn^{2+}}$ de vrije ion activiteit die resulteert in 50% van *D. magna* beïnvloed door zink. $f_{ZnBL}^{50\%}$ is de fractie van de biotisch ligand bindingsplaatsen die bezet zijn met zink bij het 50% effect niveau. Als het BLM model raamwerk correct is, vinden we volgens vergelijking B.15 een lineaire relatie tussen de gemeten $EC_{50,Zn^{2+}}$ en de activiteit van één kation, als de activiteit van de andere kationen constant wordt gehouden. Dit principe is als eerste door De Schamphelaere & Janssen (2002) gebruikt om de biotisch ligand parameters te bepalen. Vergelijking B.15 laat zien dat dit kan zonder de bindingscapaciteit van het biotisch ligand (CC_{BL}) te kennen.

Wat geldt voor het 50% effect niveau geldt ook voor het 'no-effect level':

$$NOEC_{Zn^{2+}} = \frac{f_{ZnBL}^{NOEC}}{1 - f_{ZnBL}^{NOEC}} \times \ldots \ldots \frac{1 + K_{CaBL} \cdot (Ca^{2+}) + K_{MgBL} \cdot (Mg^{2+}) + K_{NaBL} \cdot (Na^{+}) + K_{HBL} \cdot (H^{+})}{K_{ZnBL}} \quad \text{(B.16)}$$

waarin $NOEC_{Ca^{2+}}$ het gemeten 'no-effect level' uitgedrukt in de vrije calcium ion activiteit is en f_{ZnBL}^{NOEC} de fractie van de zink bindingsplaatsen is die bezet zijn met zink op het 'no-effect level'.

Vergelijking B.16 kan verdeeld worden in twee stukken. Het eerste deel gegeven door $\left(f_{ZnBL}^{NOEC}\right) / \left(1 - f_{ZnBL}^{NOEC}\right)$ kan worden beschouwd als de intrinsieke gevoeligheid van een soort voor zink. Het tweede stuk, $\left(1 + K_{CaBL} \cdot (Ca^{2+}) + K_{MgBL} \cdot (Mg^{2+}) + \ldots\right) / \left(K_{ZnBL}\right)$, kan worden beschouwd als de parameter die de invloed van de watereigenschappen op de toxiciteit van zink beschrijft. We noemen deze parameter de 'environmental moderator'.

Vergelijking B.16 vormt de basis voor het herberekenen van de NOECs, gemeten in wateren met verschillende eigenschappen, naar een NOEC voor een specifiek

watertype. Deze herberekening gaat in twee stappen. In de eerste stap, worden de gemeten NOEC en bekende activiteiten van de relevante ionen gebruikt om $f_{\mathrm{ZnBL}}^{\mathrm{NOEC}}$ te berekenen. Om dit mogelijk te maken definiëren we de effect constante in de toxiciteitstest ($E_{\mathrm{c,tox}}$) als:

$$E_{\mathrm{c,tox}} = \frac{f_{\mathrm{ZnBL}}^{\mathrm{NOEC}}}{1 - f_{\mathrm{ZnBL}}^{\mathrm{NOEC}}} \tag{B.17}$$

of omgekeerd:

$$f_{\mathrm{ZnBL}}^{\mathrm{NOEC}} = \frac{E_{\mathrm{c,tox}}}{1 + E_{\mathrm{c,tox}}} \tag{B.18}$$

De $E_{\mathrm{c,tox}}$ wordt met behulp van vergelijking B.18 berekend volgens:

$$E_{\mathrm{c,tox}} = \frac{\mathrm{NOEC}_{\mathrm{Zn}^{2+}} \cdot K_{\mathrm{ZnBL}}}{1 + K_{\mathrm{CaBL}} \cdot (\mathrm{Ca}^{2+}) + K_{\mathrm{MgBL}} \cdot (\mathrm{Mg}^{2+}) + K_{\mathrm{NaBL}} \cdot (\mathrm{Na}^{+}) + K_{\mathrm{HBL}} \cdot (\mathrm{H}^{+})} \tag{B.19}$$

De $f_{\mathrm{ZnBL}}^{\mathrm{NOEC}}$ kan dan berekend worden met behulp van vergelijking B.19 en zou in principe gelijk moeten zijn voor alle waargenomen NOECs onafhankelijk van de watereigenschappen.

In de tweede stap wordt de berekende $E_{\mathrm{c,tox}}$ gebruikt om de NOEC te voorspellen in het watertype van interesse. De activiteit van de ionen in dit watertype moeten dan wel bekend zijn. Volgens vergelijking B.16 is dan de watertype specifieke NOEC te berekenen als:

$$\begin{aligned} \mathrm{NOEC}_{\mathrm{Zn}^{2+}} &= E_{\mathrm{c,tox}} \times \ldots \\ &\ldots \frac{1 + K_{\mathrm{CaBL}} \cdot (\mathrm{Ca}^{2+}) + K_{\mathrm{MgBL}} \cdot (\mathrm{Mg}^{2+}) + K_{\mathrm{NaBL}} \cdot (\mathrm{Na}^{+}) + K_{\mathrm{HBL}} \cdot (\mathrm{H}^{+})}{K_{\mathrm{ZnBL}}} \end{aligned} \tag{B.20}$$

Voor alle andere BLMs gaat de berekening op een vergelijkbare manier.