

Ecotoxicologisch onderzoek in de Gamerense Waard

1999

Ecotoxicologisch onderzoek in de Gamerense Waard

1999

opgesteld door	opdrachtgever	Financier	datum
opgesteld door	Salzop A6 Velletrij A6 Velletrij	Financier	18-06-04
opgesteld door	drs.ing. A.G.M. Kroon	Financier	18-06-04
opgesteld door	drs. J.F. de Koning	Financier	18-06-04



AquaSense

Kruislaan 411a
Postbus 95125
1090 HC Amsterdam
telefoon 020-5922244
telefax 020-5922249

Generaal Foulkesweg 72
6703 BW Wageningen
telefoon 0317-419039
telefax 0317-426151

Url=<http://www.aquasense.com>

Citeren als: AquaSense (2004). Ecotoxicologisch onderzoek in de Gamerense Waard 1999 - In opdracht van : Rijksinstituut voor Integraal Zoetwaterbeheer en Afvalwaterbehandeling, Lelystad. Rapportnummer: 04.1425.

© AquaSense - Het copyright van deze notitie is nadrukkelijk voorbehouden aan AquaSense. Niets uit dit rapport mag op enigerlei wijze worden vermenigvuldigd zonder voorafgaande schriftelijke toestemming van AquaSense, noch mag het zonder dergelijke toestemming worden gebruikt voor enig ander doel dan waarvoor het is vervaardigd. Het is de opdrachtgever toegestaan vrijelijk copieën van deze notitie te maken. Dit rapport is gedrukt op chloorvrij gebleekt papier. De omslag is gemaakt van PVC-vrije kunststof.

Inhoud

Samenvatting	1
1. Inleiding	3
2. Methoden	5
2.1. Bemonstering en monstervoorbehandeling	5
2.2. Fysische en chemische analyses sediment	6
2.3. Toxiciteitstesten	6
2.3.1. ROTOXKIT F ä	7
2.3.2. THAMNOTOXKIT F ä	7
2.3.3. Acute test met de bacterie <i>Vibrio fischeri</i>	7
2.3.4. Chronische test met de watervlo <i>Daphnia magna</i>	8
2.3.5. Chronische test met de muggenlarve <i>Chironomus riparius</i>	9
2.3.6. Kwaliteitstesten testorganismen toxiciteitstesten ...	10
2.4. Bioaccumulatie test met oligochaeten	11
3. Resultaten en discussie	13
3.1. Fysisch-chemische analyses	13
3.1.1. Sedimentkarakterisering	13
3.1.2. Totaal C, N en P in sediment	14
3.1.3. Sedimentverontreinigingsgraad.....	14
3.2. Bioassays	15
3.2.1. Geldigheidscriteria en randvoorwaarden.....	15
3.2.2. Resultaten bioassays	16
3.2.3. TU-analyses sediment	19
3.3. Bioaccumulatie 1999	20
3.4. Onderzoek 1998	24
3.4.1. TU-analyses sediment	24

3.4.2 Beoordeling resultaten bioaccumulatie testen met sediment monsters genomen in 1998	24
4. Conclusies	27
5. Literatuur	29
Bijlagen	31

Samenvatting

In vervolg op het in 1998 uitgevoerde TRIADE onderzoek in de Gamerense Waard, werd een biotisch onderzoek uitgevoerd om inzicht te krijgen in de mogelijke effecten van toxische stoffen op een viertal locaties in het gebied. Dit onderzoek werd uitgevoerd conform de TRIADE-richtlijn van het RIZA (Maas *et al.*, 1993). Hierbij werden chronische bioassays uitgevoerd met watervlooien (*Daphnia magna*) en muggenlarven (*Chironomus riparius*) en acute testen met de bacterie *Vibrio fischeri* (Microtox[®]), de rotifeer *Brachionus calyciflorus* (ROTOXKIT FTM) en de spookgarnaal *Thamnocephalus platyurus* (THAMNOTOXKIT FTM). Daarnaast werd er een bioaccumulatietest uitgevoerd met oligochaeten.

De verontreiniging van de geteste sedimenten was klasse 2 (locatie G15) of klasse 3 (overige locaties).

Er werden voor geen van de vier sedimentmonsters significante effecten waargenomen in de drie standaard TRIADE-testen, te weten de Microtox, de chronische *Daphnia*-test en de chronische test met *Chironomus riparius*. Op basis van TU-analyses werden in meerdere sedimenten wèl effecten verwacht, maar kennelijk was de biologische beschikbaarheid van bepaalde verontreinigingen lager dan verwacht.

Er werden wèl lichte effecten (< 50% sterfte) waargenomen in de acute testen met de ROTOXKIT FTM (op lokatie G19) en met de THAMNOTOXKIT FTM (op alle vier de locaties).

Opname door oligochaeten van verontreinigingen uit het sediment was in alle vier de monsters het sterkst voor lood en hexachloorbenzeen. Ook andere metalen (arsen, zink), diverse PAK's, PCB's en DDD namen toe in de oligochaeten ten opzichte van de blanco. Dit (blanco) uitgangsmateriaal voor deze testen bevatte echter reeds relatief hoge concentraties koper, zink, PAK's, lindaan en PCB's, waardoor een toename door blootstelling aan de sedimentmonsters niet voor alle stoffen kon worden vastgesteld.

Voor enkele (groepen) verbindingen werd een verhoogde biologische beschikbaarheid vastgesteld. Deze was sterk verhoogd voor lood in alle

vier de monsters en enigszins verhoogd voor zink in monster G15 en voor chroom in monster G19. Voor de lokaties G15, G19 en G25 werd een verhoogde beschikbaarheid van enkele PCB's gemeten en voor lokaties G15 en G19 eveneens voor p,p-DDD.

Overschrijdingen van Maximaal Toelaatbare Risiconiveau's (MTR's) voor doorvergiftiging van accumulerende stoffen werden niet waargenomen.

Zowel qua toxiciteit als qua bioaccumulatie (en doorvergiftiging) is het risico van de door AquaSense geanalyseerde sedimentmonsters van de Gamerense Waard uit 1999 lager dan dat van de monsters uit 1998.

1. Inleiding

In het uiterwaardengebied de Gamerense Waard worden in het kader van natuurontwikkeling nevengeulen gegraven. Het in dit rapport beschreven biotische onderzoek werd uitgevoerd om inzicht te krijgen in de mogelijke effecten van toxische stoffen op een viertal locaties in het gebied. Conform de TRIADE-richtlijn van het RIZA (Maas *et al.*, 1993) werden er verschillende bioassays uitgevoerd:

Hiertoe werden 4 sublocaties bemonsterd. De toegepaste bioassays betreffen:

- acute toxiciteit van poriewater (afname bioluminescentie) bij de bacterie *Vibrio fischeri* (Microtox[®]),
- acute toxiciteit voor *Brachionus calyciflorus* (Rotokit F) en *Thamnocephalus platyurus* (Thamnotokit F).
- overleving en reproductie in een chronische test met poriewater en de watervlo *Daphnia magna*,
- ontwikkeling, groei en overleving van de muggenlarve *Chironomus riparius* in het onverdunde sediment, en
- een bioaccumulatie test met oligochaeten.

De uitkomsten van het in dit rapport beschreven onderzoek worden, voor zover mogelijk, beoordeeld volgens de TRIADE richtlijn (Maas *et al.*, 1993). Hierbij werden ook de bioaccumulatie resultaten gebruikt die in eerdere TRIADE onderzoeken in de Gamerense Waard zijn verkregen (AquaSense 1998b).

2. Methoden

2.1. Bemonstering en monstervoorbehandeling

Op 17 mei 1999 werden door de meetdienst van Rijkswaterstaat Directie Oost-Nederland en RIZA 4 locaties in de Gamerense Waard bemonsterd zoals weergegeven in Tabel 2.1.

Tabel 2.1 Bemonstering van het sediment in de Gamerense Waard.

Monsterlocatie	ecolims-nummer	monster-datum	sediment-karakterisering (visueel)
99-G6	307108	17-05-99	nat slib
99-G15	307109	17-05-99	nat slib
99-G19	307110	17-05-99	nat slib
99-G25	307111	17-05-99	nat slib

De sedimentmonsters werden aangeleverd in een hoeveelheid van 50 liter in 10 liter polypropyleen emmers. Na binnenkomst werden de monsters geregistreerd, voorzien van een AquaSense monsternummer (ECOLIMS nummer) en tot gebruik gekoeld (4 °C) en donker opgeslagen.

2.2. Fysische en chemische analyses sediment

De fysisch-chemische analyses (droge stof, org.stof, korrelgrootte verdeling (<2, <16, <63 en < 210mm), 8 metalen, 16 PAK's, 7 PCB's, OCB's, minerale olie, EOX, totaal N en P) van de waterbodems van de 4 bemonsterde punten werden door AquaSense uitbesteed aan het STERLAB gecertificeerd laboratorium van Omegam. Op basis van de analyseresultaten werd de vervuilingsgraad bepaald volgens de Evaluatienota Water (Ministerie van Verkeer en Waterstaat, 1994) met behulp van Waterbodem BOOS 0.5 (Rijksinstituut voor Integraal Zoetwaterbeheer en Afvalwaterbehandeling, 1997).

2.3. Toxiciteitstesten

Volgens de TRIADE-benadering werden **chronische** bioassays met de muggenlarve *Chironomus riparius* en de watervlo (kreeftachtige) *Daphnia magna* uitgevoerd. De eerste soort betreft een sedimentbewonend (benthisch) organisme; de tweede soort een organisme dat in de waterkolom erboven leeft (pelagisch). Deze soorten werden op twee verschillende manieren blootgesteld: resp. via een sediment/water-systeem en via geïsoleerd poriewater. Poriewatertesten zijn in het algemeen goed bruikbaar voor het beoordelen van verontreinigde sedimenten omdat aangenomen wordt dat organismen in het sediment aan toxische stoffen worden blootgesteld via het poriewater.

Omdat sedimenten dermate verontreinigd kunnen zijn dat ook **acute** toxiciteit kan worden aangetroffen, werd conform de TRIADE-benadering ook een (acute) poriewatertest met de luminescerende bacterie *Vibrio fischeri* (Microtox[®]) uitgevoerd. Daarnaast werd er tevens de acute toxiciteit gemeten voor *Brachionus calyciflorus* (Rotoxkit F) en *Thamnocephalus platyurus* (Thamnotoxkit F).

Voor gebruik in de bioassays werden de sedimentmonsters voorbehandeld. Het bovenstaande water werd verwijderd. De 4-5 emmers van ieder sedimentmonster werden vervolgens bij elkaar gevoegd, mechanisch geroerd met behulp van een mengapparaat en weer over de emmers verdeeld.

Vlak voor het inzetten van de testen werden in het blanco- en het onverdunde testmedium (poriewater of boven het sediment staande water) de volgende fysische en chemische parameters semi-kwantitatief gemeten:

- zuurgraad (met pH-meter);
- zuurstofgehalte (met zuurstofelectrode);
- nitrietgehalte (met Merck-testkit);
- ammoniumgehalte (met Merck-testkit);
- geleidbaarheid (met geleidbaarheidsmeter).

In de chronische testen (*D. magna* en *C. riparius*) werden deze parameters ook éénmaal per week gedurende de testen gemeten.

Hieronder wordt per bioassay de werkwijze beschreven.

2.3.1. ROTOXKIT F ä

De acute test met de ROTOXKIT FTM werd uitgevoerd volgens het standaardprotocol behorende bij deze TOXKIT (Creasel, 1990). Hierbij werd de sterfte bij juvenielen van het raderdier *Brachionus calyciflorus* beoordeeld na 24 uur blootstelling aan de 5 volgende concentraties testmedium: 100, 56, 32, 18 en 10 volume%. De verdunningen werden aangemaakt met het in de TOXKIT bijgeleverde standaard zoetwatermedium. De testen zijn uitgevoerd met gecentrifugeerde poriewater monsters. Het testvolume bedroeg 0,3 ml per testcupje. Als blanco werd 100% zoetwatermedium getest. De test werd in zesvoud uitgevoerd met in ieder testcupje 5 juvenielen. De temperatuur bedroeg $25 \pm 1^\circ\text{C}$, en de test werd in het donker uitgevoerd. Tijdens de test werden de proefdieren niet gevoerd.

Uit de resultaten werd met behulp van het ToxCalc-softwarepakket (Tidepool, 1995), de concentratie testmedium geschat die 50% sterfte geeft na 24 uur blootstelling (LC₅₀). Waar significante effecten werden waargenomen, is ook een acute NOEC_{sterfte} bepaald.

2.3.2. THAMNOTOXKIT F ä

De acute test met de THAMNOTOXKIT FTM werd uitgevoerd volgens het standaardprotocol behorende bij deze TOXKIT (Creasel, 1992). Hierbij werd de sterfte bij juvenielen van de kreeftachtige *Thamnocephalus platyurus* beoordeeld na 24 uur blootstelling aan de 5 volgende concentraties testmedium: 100, 56, 32, 18 en 10 volume%. De verdunningen zijn aangemaakt met het in de TOXKIT bijgeleverde standaard zoetwatermedium. De testen zijn uitgevoerd met gecentrifugeerde poriewater monsters. Het testvolume bedroeg 1 ml per testcupje. Als blanco werd 100% zoetwatermedium getest. De test werd in drievoud uitgevoerd met in ieder testcupje 10 juvenielen. De temperatuur bedroeg $25 \pm 1^\circ\text{C}$, en de test werd in het donker uitgevoerd. Tijdens de test werden de proefdieren niet gevoerd.

Uit deze resultaten werd met behulp van het ToxCalc-softwarepakket (Tidepool, 1995), de concentratie testmedium geschat die 50% sterfte geeft na 24 uur blootstelling (LC₅₀). Waar significante effecten werden waargenomen, is ook een acute NOEC_{sterfte} bepaald.

2.3.3. Acute test met de bacterie *Vibrio fischeri*

Door middel van centrifugeren werd poriewater gewonnen uit de voorbehandelde sedimentmonsters. Binnen 4 uur na winnen werd met dit poriewater de acute test met de bacterie *Vibrio fischeri* uitgevoerd volgens NVN 6516 (1993) aangevuld met de TRIADE-methodebeschrijving (Maas *et al.*, 1993). In deze test werd met een lichtmeter (Microtox[®]) de afname van de bioluminescentie bij de bacterie beoordeeld na 5, 15 en 30 minuten blootstelling aan de 4 volgende concentraties testmedium: 45, 22.5, 11.25 en 5.625 volume %.

De test- en incubatietemperatuur bedroeg 15°C. De analyses werden in duplo uitgevoerd, waarna per blootstellingsduur één gemiddelde EC₂₀-waarde werd bepaald. De EC₂₀-waarden werden bepaald met behulp van de programmatuur en software behorende bij het Microtox-teststelsel.

De EC₂₀-waarde (Effect Concentratie) is gedefinieerd als de concentratie testmedium, waarbij na een gegeven blootstellingsduur een afname van 20% van de bioluminescentie t.o.v. de blanco (= verdunningsmedium) kan worden waargenomen. De laagste van de op de 3 tijdstippen bepaalde EC₂₀-waarden, wordt gebruikt om de toxiciteit van het monster aan te geven.

2.3.4. Chronische test met de watervlo *Daphnia magna*

Door middel van centrifugeren werd poriewater gewonnen uit de voorbehandelde sedimentmonsters. Dit poriewater werd gefiltreerd over een 0,45 µm filter en tot gebruik hooguit 1 week gekoeld in het donker bewaard in afgesloten glazen potten. Het poriewater werd alleen belucht indien het zuurstofgehalte vlak voor gebruik lager was dan 3 mg/l (Maas *et al.*, 1993). Na beluchting werd nogmaals gemeten of voldaan werd aan dit criterium. Door verdunning met Elendt-medium¹ werden de volgende 4 concentraties poriewater aangemaakt: 10, 32, 56 en 100 volume %. Per concentratie werden 10 testvatjes gevuld met 50 ml testmedium. Als blanco-testmedium werd Elendt-medium gebruikt. In ieder testvatje werd daarna één watervlo (leeftijd < 24 uur) ingezet.

Gedurende de bioassay werd tweemaal per week het testmedium verversd, en werd het aantal geproduceerde jongen geteld en verwijderd. Het tellen en verwijderen van de jongen werd tevens éénmaal per week tussen de beide verversingen uitgevoerd. Dagelijks werd de overleving van de ingezette watervloien gecontroleerd, eventuele reproductie genoteerd en werd gevoerd met een *Scenedesmus*-algensuspensie. De testduur bedroeg minimaal 14 dagen en werd afgebroken op het moment dat in het blanco testmedium minimaal 3 broedsels waren voltooid.

Als maat voor de reproductiecapaciteit werd uit de "cohort life-table"² per poriewaterconcentratie de gemiddelde intrinsieke populatiegroeisnelheid (r_m) berekend (Maas *et al.*, 1993). Met name het moment van eerste reproductie (eerste worp) en de aantallen nakomelingen per worp zijn bepalend voor deze parameter. Met het ToxCalc-pakket (Tidepool, 1993) werd getoetst of de verschillen in de gemiddelde r_m -waarden per concentratie significant waren ten opzichte van de bij die serie behorende blanco. Indien zelfs na transformatie van de r_m -waarden niet kon worden voldaan aan de randvoorwaarden voor

¹ Standaardmedium bestaande uit gedemineraliseerd water waaraan enkele zouten en vitaminen toegevoegd zijn. Dit medium wordt gebruikt bij het kweken van *D. magna*.

² Tabel met daarin het aantal nakomelingen per ingezet vrouwtje gedurende de test (zie tekst bij Bijlage 13b).

het mogen uitvoeren van de Williams-test³, werd gebruik gemaakt van een verdelingsvrije (niet-parametrische) rangsom-test. Op basis van deze statistische analyse werd de NOECreproductie-waarde bepaald.

De NOECsterfte-waarde werd gelijk gesteld aan die testconcentratie waarbij $\leq 20\%$ sterfte optrad, indien sprake was van een trend in drie opeenvolgende verdunningen van poriewater (Maas *et al.*, 1993). Indien geen sprake was van een duidelijke trend in opeenvolgende verdunningen, werd de NOECsterfte vastgesteld aan de hand van de beschikbare informatie over het sterfteverloop binnen de geteste concentratiereeks. Tevens werd (indien mogelijk) de poriewaterconcentratie bepaald die 50% sterfte van de watervlooien gaf aan het einde van de test (LC₅₀). Deze bepaling werd uitgevoerd met behulp van het Toxcalc pakket (Tidepool, 1995)

2.3.5. Chronische test met de muggenlarve *Chironomus riparius*

Voor deze test werd het benodigde sediment gezeefd over een 1 mm zeef. Met dit sediment werd een mengsel gemaakt bestaande uit 1 volumedeel sediment en 4 volumedelen DSW-medium ("Dutch Standard Water"). Na 24 uur schudden werden 4 testvatjes gevuld met 50 ml van dit mengsel. Van het mengselrestant werd na drie dagen bezinken het elutriaat gewonnen, waarmee drie testvatjes tot ca. 100 ml werden gevuld. Per testvatje met elutriaat werden willekeurig 2 halve eipakketten (maximaal 7 dagen oud) van *Chironomus riparius* ingezet. Na 4 dagen werd beoordeeld of beide eipakkethelften waren uitgekomen en werden de uitgekomen larven gevoerd met een 2% Trouvit-oplossing. Na 7 dagen werden uit het elutriaat individuen van het 2^e larvale stadium van *C. riparius* gehaald en werd geschat of meer dan 50% van de eieren was uitgekomen. Per testvatje met sediment/DSW-mengsel werden 25 van deze larven ingezet. Drie maal per week werden de testvatjes belucht en werd gevoerd met een 2% Trouvit-oplossing. Na 28 dagen werden de larven voorzichtig over een 250 μm roestvrij stalen zeef uitgespoeld. Het aantal larven werd geteld en van de 4^e stadium (L4) larven werd vervolgens het gemiddelde drooggewicht bepaald.

Als referentie voor de beoordeling van de sedimentmonsters werd sediment uit het Drontermeer gebruikt.

³ Voorwaarden voor het mogen uitvoeren van deze test zijn: normaal verdeelde waarnemingen en homogeniteit van varianties. Normaliteit en homogeniteit worden met Toxcalc getest met behulp van respectievelijk de Shapiro-Wilk's en de Bartlett's test (Tidepool, 1993) uit het SPSS-softwarepakket (Norusis, 1992).

Met behulp van een ANOVA-test werd getoetst of de waarnemingen voor een van de volgende parameters significant ($P \leq 0,05$) verschilde van de referentie:

- gemiddelde sterfte;
- gemiddelde larvale ontwikkeling;
- gemiddeld drooggewicht van de L4-larven.

Voor uitvoering van deze test werd gebruik gemaakt van het SPSS-softwarepakket (Norusis, 1992).

2.3.6. Kwaliteitstesten testorganismen toxiciteitstesten

Vibrio fischeri

Ter controle van de gevoeligheid van de bacterie *Vibrio fischeri* wordt regelmatig een test uitgevoerd met fenol als referentiestof. In deze test wordt de fenolconcentratie bepaald waarbij na 5 minuten blootstelling 20 % afname van de bioluminescentie t.o.v. de blanco kon worden waargenomen (5 min-EC₂₀ volgens NVN 6516, 1993).

De resultaten van de kwaliteitscontrole zijn weergegeven in Tabel 2.2. De gevoeligheid van *V. fischeri* voor fenol viel binnen de gestelde acceptatieranges.

Tabel 2.2. Resultaten van de kwaliteitstest met *Vibrio fischeri* uitgevoerd met fenol als referentiestof.

	EC ₂₀ , 5 min. (mg fenol/l)
acceptatierange NVN 6516	3 - 10
testresultaat (2 februari 1999)	6,0

Daphnia magna en *Chironomus riparius*

De laboratoriumkweken van *Daphnia magna* en *Chironomus riparius* van AquaSense worden periodiek onderworpen aan een gevoeligheidstest. In deze test wordt de kaliumdichromaat concentratie bepaald waarbij 50% van de watervlooien na 24 uur immobiel zijn (24u-EC₅₀ volgens ISO 6341, 1989), danwel de concentratie waarbij 50% van de muggenlarven na 96 uur dood zijn (96u -LC₅₀) volgens Grootelaar & Mulder (1991).

De resultaten van de gevoeligheidscontrole van de AquaSense kweken zijn weergegeven in Tabel 2.3. De gevoeligheden van *D. magna* en *C. riparius* voor kaliumdichromaat viel binnen de gestelde acceptatieranges.

Tabel 2.3. Resultaten van de kwaliteitstesten met *Daphnia magna* en *Chironomus riparius* uitgevoerd m.b.v. kaliumdichromaat als referentiestof.

	<i>Daphnia magna</i> EC ₅₀ , 24 uur (mg/l)	<i>Chironomus riparius</i> LC ₅₀ , 96 uur (mg/l)
	K ₂ Cr ₂ O ₇ datum test	K ₂ Cr ₂ O ₇ datum test

acceptatie range ISO 6341	0,6 - 1,7	-	-	-
acceptatie range RIZA	-	-	20,0 - 75,0	-
testresultaat	1,18	17 maart 1999	46,5	19 maart 1999

Brachionus calyciflorus* en *Thamnocephalus platyurus

De toxkittesten van *Brachionus calyciflorus* en *Thamnocephalus platyurus* worden, indien er hiermee bioassays uitgevoerd worden, door AquaSense onderworpen aan een gevoeligheidstest. In deze test wordt de kaliumdichromaat concentratie bepaald waarbij 50% van de organismen na 24 uur immobiel zijn (24u-LC₅₀ waarde volgens batchinformatie van Creasel)

De resultaten van de gevoeligheidscontrole van de toxkittesten zijn weergegeven in Tabel 2.4. De gevoeligheden van *Brachionus calyciflorus* en *Thamnocephalus platyurus* voor kaliumdichromaat vielen binnen de gestelde acceptatieranges.

Tabel 2.4. Resultaten van de kwaliteitstesten met *Brachionus calyciflorus* en *Thamnocephalus platyurus* uitgevoerd m.b.v. kaliumdichromaat als referentiestof.

	<i>B. calyciflorus</i> LC ₅₀ , 24 uur (mg/l)		<i>T. platyurus</i> LC ₅₀ , 24 uur (mg/l)	
	K ₂ Cr ₂ O ₇	datum test	K ₂ Cr ₂ O ₇	datum test
range Creasel (95% b.i.)	9,6 - 17,8	-	0,1 - 0,2	-
testresultaat	11,6	24 juli 1999	0,1	20 juni 1999

2.4. Bioaccumulatie test met oligochaeten

De bioaccumulatie test is uitgevoerd volgens de RIZA-methode (Maas *et al.*, 1993). Per sedimentmonster werden twee sediment-watersystemen aangemaakt. Voor elk sediment-watersysteem werd hiertoe 1 liter nat sediment (gezeefd over 500µm) met 4 liter DSW gemengd. De sediment-watersystemen werden gedurende 24 uur geschud. Vervolgens is het mengsel gekoeld weggezet. Twee dagen voor de start van de bioaccumulatie-experimenten werd het mengsel uitgeschonken in aquaria, waarna het sediment bij 20°C kon bezinken. Tijdens het bezinken werd matig belucht.

De oligochaeten werden via de aquariumhandel verkregen. Voor het inzetten van de testen werd het levende materiaal gedurende 1 week in het laboratorium gespoeld onder een zacht lopende kraan met leidingwater. Gedurende deze periode werden de oligochaeten twee maal gevoerd met een 10% Trouvit-suspensie (% gewicht/volume, aangemaakt in milli-Q water) met een dosis van 10 mL suspensie per 150 gram natgewicht aan oligochaeten.

De tests zijn in duplo ingezet met ongeveer 20 gram natgewicht aan oligochaeten. De oligochaeten groeven zich vervolgens in het sediment in en zijn aldus blootgesteld aan de aanwezige verontreinigingen. De

experimenten werden in afgedekte aquaria in het donker uitgevoerd bij een temperatuur van $20 \pm 2^\circ\text{C}$. De aquaria werden permanent belucht. De verdamppte hoeveelheid water werd twee maal per week met milli-Q water aangevuld. De oligochaeten zijn gedurende het experiment 3 keer per week gevoerd, waarbij per bak 1 ml van een 10% Trouvit-suspensie werd toegevoegd.

Gedurende de testen werden wekelijks de zuurgraad (pH), de temperatuur, het zuurstofgehalte, het nitriet- en ammoniumgehalte (met behulp van Merck-testkits) en de geleidbaarheid (met behulp van een geleidbaarheidsmeter) (semi)-kwantitatief gemeten in het bovenstaande water.

De bioaccumulatie-experimenten werden na een blootstelling van 28 dagen beëindigd. De inhoud van de testsystemen werd met behulp van leidingwater kort over een $300\ \mu\text{m}$ en vervolgens over een $500\ \mu\text{m}$ zeef (met de $300\ \mu\text{m}$ zeef eronder) gespoeld. De oligochaeten werden vervolgens op een $250\ \mu\text{m}$ zeef gebracht, die was ondergedompeld in bovenstaand water afkomstig van het sediment-watersysteem. Dit systeem bleef vervolgens gedurende 24 uur staan, tijdens welke de oligochaeten door de zeef kropen en de laatste sediment resten op de zeef achterbleven. Het water werd hierbij belucht om sterfte van de oligochaeten te voorkomen. Na deze verwatering werd de natte opbrengst van alle duplo's gewogen.

Voor de chemische analyses werd het oligochaeten materiaal verdeeld over een glazen en een kunststof potje in de verhouding 3:2. De ingevroren oligochaetenmonsters zijn vervolgens aan OMEGAM te Amsterdam geleverd ten behoeve van chemische analyses. Hierbij werden de volgende componenten bepaald: drooggewicht, vet, 8 metalen, EOX, olie, 7 PCB's, 16 PAK's en OCB's.

3. Resultaten en discussie

3.1. Fysisch-chemische analyses

De ruwe gegevens van de analyses van het sediment zijn weergegeven in Bijlage 1.

3.1.1. Sedimentkarakterisering

In Tabel 3.1 worden de fysische analysegegevens weergegeven van de waterbodems van de onderzochte lokaties. Deze fysische karakterisering van de bodemtypen (Tabel 3.1) verschilt van de visuele karakterisering van de bodemtypen (Tabel 2.1). Een overzicht van de N, P en C gehalten in het sediment is weergegeven in Tabel 3.2 en 3.3.

Tabel 3.1 Resultaten van fysische sediment analyses.
(O.S.= organische stof; D.S. = droge stof).

Monstercode	Ecolimsnr.	O.S. (% D.S.)	< 2 µm (% D.S.)	< 16 µm (% D.S.)	< 63 µm (% D.S.)	> 210 µm (% D.S.)	Vocht (%)	Karakterisering ¹
99-G6	307108	6,4	13,0	22,4	34,4	76,9	42,7	stabiel slib
99-G15	307109	3,8	17,2	34,3	52,5	76,5	41,3	stabiel slib
99-G19	307110	8,2	35,7	56,9	66,8	76,4	60,4	instabiel slib
99-G25	307111	7,6	8,2	15,5	25,8	56,8	40,2	stabiel slib

¹: Karakterisering bepaald a.d.h. van vochtgehalte en korrelgrootte verdeling conform den Besten (1997).

3.1.2. Totaal C, N en P in sediment

Tabel 3.2 Overzicht van de percentages koolstof, (Kjeldahl-)stikstof en fosfor in de verschillende sedimenten. Gegevens zijn weergegeven als gewichtspercentages ten opzichte van gedroogd materiaal.

Monster	ecolimsnr.	% C	% N	% P
99-G6	307108	6,4	0.20	0.09
99-G15	307109	3,8	0.10	0.14
99-G19	307110	8,2	0.28	0.16
99-G25	307111	7,6	0.16	0.10

Tabel 3.3 Overzicht van de gemiddelde C/N, C/P en N/P verhoudingen in de verschillende sedimenten.

Monster	ecolimsnr.	C/N	C/P	N/P
99-G6	307108	32.0	72.7	2.3
99-G15	307109	38.0	27.1	0.7
99-G19	307110	29.3	51.3	1.8
99-G25	307111	47.5	78.4	1.6

3.1.3. Sedimentverontreinigingsgraad

De resultaten van de toetsing van de gehalten van toxicanten volgens de waterbodennormering uit de Evaluatienota Water zijn weergegeven in de Bijlage 2. Op basis van deze toetsing kon de vervuilingsgraad worden bepaald zoals weergegeven in Tabel 3.4. In deze tabel worden tevens de belangrijkste verontreinigingen aangegeven.

Zoals uit de tabel blijkt vallen alle monsters in vervuilingsgraad klasse 2 of 3. Hexachloorbenzeen en PCB's dragen hier in alle gevallen toe bij. PAK's spelen een rol bij G6, G15 en G25, DDT en kwik eveneens bij G25.

Tabel 3.4 Sedimentverontreinigingsgraad volgens de Evaluatienota Water (Min. V&W, 1994).

Monstercode	Ecolimsnr.	metalen	Chloorbenzenen	PCB's	EOX	OCB's	PAK's	Eind	Klassebepalende verontreinigingen
99-G6	307108	2	3	3	2	≤2	3	3	HCB, PCB's, PAK's
99-G15	307109	1	2	2	2	≤3	2	2	EOX, HCB, PCB's, PAK's
99-G19	307110	2	3	3	2	≤2	2	3	HCB, PCB's
99-G25	307111	3	3	3	2	3	3	3	kwik, HCB, PCB's, DDT, PAK's

3.2. Bioassays

3.2.1. Geldigheidscriteria en randvoorwaarden

Geldigheidscriteria

De gehanteerde richtlijnen geven criteria aan voor de **geldigheid** van de bioassays. In Bijlage 3 zijn deze criteria en de geconstateerde waarden per test weergegeven. Voor alle bioassays werd aan de geldigheidscriteria voldaan.

Fysisch-chemische randvoorwaarden

Een overzicht van de resultaten van de semi-kwantitatieve controle van enkele fysische en chemische parameters (zie 2.3) worden voor *Vibrio fischeri*, Rotoxkit, Thamnotoxkit, *Daphnia magna*, *Chironomus riparius*, en de oligochaeten weergegeven in Bijlage 4 t/m 9.

Door het RIZA (Maas *et al.*, 1993) zijn criteria (**randvoorwaarden**) voor deze parameters opgesteld. Wanneer gedurende de bioassays wordt voldaan aan deze randvoorwaarden, worden géén negatieve effecten van deze parameters verwacht. De randvoorwaarden voor deze parameters worden eveneens vermeld in de genoemde Bijlagen.

Acute test met *Vibrio fischeri* (Bijlage 4)

Door het RIZA (Maas *et al.*, 1993) zijn criteria voor deze parameters opgesteld. Voor alle monsters werd voldaan aan de gestelde randvoorwaarden.

Acute testen met Rotoxkit FTM (Bijlage 5)

Door het RIZA (1996) zijn voorlopige criteria voor fysische en chemische parameters opgesteld voor Rotoxkit FTM. Wanneer gedurende de testen wordt voldaan aan deze criteria, worden géén negatieve effecten van deze parameters verwacht. De criteria voor deze parameters worden vermeld in Bijlage 5. Voor alle monsters werd voldaan aan de gestelde randvoorwaarden.

Acute testen met Thamnotoxkit FTM (Bijlage 6)

Door het RIZA (1996) zijn voorlopige criteria voor fysische en chemische parameters opgesteld voor Thamnotoxkit FTM. Wanneer gedurende de testen wordt voldaan aan deze criteria, worden géén negatieve effecten van deze parameters verwacht. De criteria voor deze parameters worden vermeld in Bijlage 6. Voor alle monsters werd voldaan aan de gestelde randvoorwaarden.

Chronische test met *Daphnia magna* (Bijlage 7)

Door het RIZA (Maas *et al.*, 1993) zijn voorlopige criteria voor fysische en chemische parameters opgesteld voor de chronische toxiciteitstest met *Daphnia magna*. Uit de resultaten blijkt dat aan alle randvoorwaarden die zijn gesteld voor de testparameters gedurende de gehele test werd voldaan.

Chronische test met *Chironomus riparius* (Bijlage 8)

Gedurende de eerste week van de bioassay worden de eieren en larven van *C. riparius* alleen blootgesteld via de waterfase (elutriaat). Voor alle monsters kon voldaan worden aan de voor het elutriaat gestelde randvoorwaarden.

Na deze eerste week worden de larven blootgesteld in sediment/water systemen. De randvoorwaarden worden in dit geval gemeten in het bovenstaande water. Gedurende deze periode overschreden de slibreferentie en de monsters 99-G15, 99-G19 en 99-G25 de randvoorwaarde voor zuurstof.

Aangezien de slibreferentie voldoet aan alle geldigheidscriteria, mag verondersteld worden dat er geen negatief effect is opgetreden ten gevolge van de overschrijding van de randvoorwaarde voor zuurstof. Gezien het feit dat in géén van de drie monsters een significant negatief effect werd waargenomen ten opzichte van de blanco (zie paragraaf 3.2.2), is uit te sluiten dat de overschrijding van de randvoorwaarde voor zuurstof een negatief effect heeft gehad op het resultaat van de muggenlarventest. Voor alle andere monsters en parameters werd ook gedurende dit gedeelte van de test aan de gestelde randvoorwaarden voldaan.

Bioaccumulatie -experiment met oligochaeten (Bijlage 9)

Door het RIZA (Maas *et al.*, 1993) zijn criteria voor fysische en chemische parameters opgesteld voor de bioaccumulatietest met oligochaeten. Voor alle monsters werd gedurende de test aan de gestelde randvoorwaarden voldaan.

3.2.2. Resultaten bioassays

De "ruwe" testresultaten van de bioassays worden weergegeven in Bijlage 10 t/m 14.

De resultaten van *Vibrio fischeri*, *Daphnia magna* en *Chironomus riparius* zijn beknopt samengevat in Tabel 3.5. De resultaten van Rotoxkit FTM en Thamnotoxkit FTM zijn weergegeven in Tabel 3.6

Acute test met *Vibrio fischeri*

Tijdens de test werd voor geen van de monsters een negatief effect

gevonden voor *V. fischeri*. Daarom ligt de EC₂₀ voor alle monsters hoger dan 45 volume %, gemeten na een testperiode van 30 minuten.

Tabel 3.5. Resultaten van de bioassays (d.w. = drooggewicht; n.v.t. = niet van toepassing). Er werden geen negatieve effecten waargenomen.

	Acuut		Chronisch						
organisme	<i>Vibrio fischeri</i>		<i>Daphnia magna</i>			<i>Chironomus riparius</i>			
testduur	5, 15 en 30 minuten		14-17 dagen			28 dagen			
effect-parameter	laagste EC ₂₀ (vol. %)	na ... minuten	NOEC reproductie (vol. %)	NOEC sterfte (vol. %)	LC ₅₀ (vol. %)	sterfte (%)	% larven in stadium L2, L3 of dood	d.w L4-larven (mg)	% t.o.v. referentie
slib-referentie	n.v.t.		n.v.t	n.v.t	n.v.t	8,0	15,0	0,64	-
99-G6	> 45	30	100	100	> 100	6,0	9,0	0,65	1,2
99-G15	> 45	30	100	100	> 100	0	4,0	0,52	-18,4
99-G19	> 45	30	100	100	>100	11,0	24,0	0,48	-24,8
99-G25	> 45	30	100	100	> 100	10,0	12,0	0,53	-17,5

Rotoxkit Fä

Bij de Rotoxkit-testen is sprake van een acuut effect indien de LC₅₀-waarde en/of de NOEC_{sterfte} lager is dan 100 vol.%. Uit de resultaten (Tabel 3.6) blijkt dat voor sedimentmonster 99-G19 een acuut effect (NOEC_{sterfte} van 18 volume%) waargenomen werd. Er dient hierbij echter opgemerkt te worden dat bij dit monster sprake was van een onduidelijke dosis-effect relatie. Hiervoor is geen eenduidige oorzaak aan te wijzen. De EC₅₀-waarde van dit monster was >100volume%. Voor de overige monsters werd geen acuut effect waargenomen.

Thamnotoxkit Fä .

Voor de Thamnotoxkit-testen geldt ook dat er sprake is van een acuut effect indien de LC₅₀-waarde en/of de NOEC_{sterfte} lager is dan 100 volume%. Uit de resultaten (Tabel 3.6) blijkt dat alle sediment-monsters een effect veroorzaakten op *Thamnocephalus platyurus*. Voor deze sedimentmonsters was de NOEC_{sterfte} dan ook lager dan 100 vol%. Voor geen van de monsters werd echter een LC₅₀ waarde lager dan 100 volume% waargenomen. Er dient opgemerkt te worden dat bij de monsters 99-G6 en 99-G19 sprake was van een onduidelijke dosis-effect relatie. Hiervoor is geen eenduidige oorzaak aan te wijzen.

Tabel 3.6 Resultaten van de Rotoxkit F™ en de Thamnotoxkit F™ testen met de verschillende sedimenten. Negatieve effecten zijn gearceerd weergegeven. De laatste kolom vermeldt een eventuele overschrijding van randvoorwaarden .

test met:		Rotoxkit F™		Thamnotoxkit F™		mogelijk effect randvoorwaarden
testorganisme:		<i>Brachionus calyciflorus</i>		<i>Thamnocephalus platyurus</i>		
diergroep:		raderdiertje		kreeftachtige		
testduur:		24 uur		24 uur		
effectparameter:		NOEC _{st} (vol.%)	LC ₅₀ (vol. %)	NOEC _{st} (vol.%)	LC ₅₀ (vol. %)	
99-G6	307108	100	>100	18	>100	
99-G15	307109	100	>100	32	>100	
99-G19	307110	18	>100	56	>100	
99-G25	307111	100	>100	56	>100	

Chronische test met *Daphnia magna*

De resultaten voor de verdunningen van het poriewater van de vier monsters werden getoetst ten opzichte van de blanco test. Noch op de overleving, noch op de reproductie werden in welke verdunning van welk monster dan ook significante effecten gevonden. De NOEC_{sterfte} en de NOEC_{reproductie} komen daarmee op 100 vol. % (Tabel 3.5).

Chronische test met *Chironomus riparius*

Voor geen van de monsters werd een significant effect aangetoond met betrekking tot de parameters sterfte, larvaal stadium en drooggewicht van de L4-larven (Tabel 3.5).

3.2.3. TU-analyses sediment

Uit de resultaten van de uitgevoerde toxiciteitstesten blijkt, dat een aantal sedimentmonsters negatieve effecten veroorzaakten. Om vast te kunnen stellen of de in het sediment gemeten contaminanten een mogelijke rol bij het tot stand komen van de negatieve effecten hebben gespeeld, werd gebruik gemaakt van de resultaten van de op het sediment uitgevoerde chemische analyses en van toxiciteitsgegevens van het RIZA. Voor een aantal stoffen zijn echter nog geen toxiciteitsdata beschikbaar. Deze stoffen konden bij de uitgevoerde berekeningen daarom niet meegenomen worden.

De berekeningen zijn uitgevoerd volgens het Toxic Unit (TU)-concept, om zo de totale toxiciteit van het sedimentmonster in te kunnen schatten. De Toxic Units zijn op basis van de chemische analyses uit Bijlage 1 en 2 berekend (TU_{chemie}). De TU_{chemie} -waarde wordt berekend door de gestandaardiseerde concentratie van een bepaalde verbinding te delen door de bijbehorende NOEC-waarde. Door van alle individuele chemische verbindingen per stofgroep de bijbehorende TU_{chemie} -waarden voor één specifiek testorganisme op te tellen, wordt een gesommeerde TU-waarde voor het sedimentmonster gekregen. Indien deze waarde groter is dan 1, wordt theoretisch verwacht dat de NOEC-waarde voor dit organisme onder de 100 volume% ligt. Indien deze waarde kleiner is dan 1, wordt verwacht dat het onverdunde sediment of poriewater niet toxisch is.

Uit de resultaten van de uitgevoerde berekeningen (Tabel 3.7, Bijlage 15) blijkt, dat voor alle monsters effecten te verwachten waren op alle drie organismen, behalve voor G15. De stoffen die tot deze verwachting leidden waren metalen, waaronder nikkel, cadmium, koper en chroom (*Daphnia* en *Chironomus*) en PAK's, met name benzo(ghi)peryleen (*Daphnia*) en/of anthraceen (Microtox). Van de organochloorbestrijdingsmiddelen was op basis van deze TU-analyses hoegenaamd geen toxiciteit te verwachten.

In de testen waarop de TU-analyse is gebaseerd (Microtox, chronische watervlooiëntest en chronische muggenlarventest) werden echter geen significante effecten waargenomen. Mogelijk was de biologische beschikbaarheid van de verontreinigingen verlaagd, maar het kan ook zijn dat de voor de TU-analyses gebruikte toxiciteitsgegevens, bijvoorbeeld die voor nikkel en benzo(ghi)peryleen, leiden tot een overschatting. In de acute ROTOXKIT FTM en vooral in de THAMNOTOXKIT FTM test traden wel (lichte) effecten op (Tabel 3.6). Er werd in ROTOXKIT FTM een negatief effect gevonden voor het monster G19. Op basis van de TU-analyse kan hier verder geen specifieke uitspraak over worden gedaan, aangezien er geen valide data voorhanden is. Indien we de biologische beschikbaarheid voor de oligochaeten onderling vergelijken, dan blijkt chroom voor het monster

G19 als enige verhoogd te zijn. Dit zou eventueel een verklaring voor de gevonden toxiciteit voor dit monster kunnen zijn. Op basis van data verkregen uit het TREFKANS programma van STOWA (1997) zou er geen effect van chroom verwacht worden.

Tabel 3.7. Overzicht van de per testorganisme en sedimentmonster berekende $\Sigma TU_{\text{chemie}}$ -waarden op basis van de geanalyseerde verbindingen en de waargenomen effecten. Alle TU's zijn op basis van NOEC-waarden in mg/kg sediment. $\Sigma TU_{\text{chemie}}$ -waarden > 1 voor alle stofgroepen tezamen zijn gearceerd weergegeven.

test met:	ΣTU Stoffen	<i>Vibrio fischeri</i> (acuut)	<i>Daphnia magna</i> (chronisch)	<i>Chironomus riparius</i> (chronisch)
99-G6	metalen PAK's OCB's	0,14 1,84 0,00	1,83 1,98 0,01	1,18 0,69 0,01
99-G15	metalen PAK's OCB's	0,05 0,31 0,00	0,89 0,49 0,00	0,51 0,13 0,00
99-G19	metalen PAK's OCB's	0,15 1,02 0,00	1,76 1,55 0,01	1,14 0,41 0,00
99-G25	metalen PAK's OCB's	0,20 4,96 0,00	2,29 4,34 0,02	1,58 1,67 0,01

3.3. Bioaccumulatie 1999

Recovery aan het einde van de bioaccumulatietest

Op basis van de natgewichten van oligochaeten aan het begin en het einde van de bioaccumulatie-experimenten kan het percentage "recovery" berekend worden. De resultaten hiervan, zoals weergegeven in Bijlage 16 zijn beknopt samengevat in Tabel 3.8.

Uit de resultaten blijkt, dat de gemiddelde recovery over het algemeen redelijk was en varieerde tussen de 63 en 86 %. Deze opbrengsten duiden op geen of weinig toxiciteit van de vier monsters voor oligochaeten.

Tabel 3.8 Overzicht van het percentage recovery op basis van natgewichten na afloop van de bioaccumulatie-experimenten met oligochaeten.

Sediment monsters	Ecolimsnr.	Gemiddelde recovery (%)
99-G6	307108	86
99-G15	307109	69
99-G19	307110	63
99-G25	307111	68

Resultaten chemische analyses

De ruwe resultaten van de chemische analyses van de oligochaeten zijn te vinden in Bijlage 17. In Bijlage 18 worden de gehalten in de oligochaeten vóór het inzetten van de test (blanco) en aan het einde van de test weergegeven. Met deze gegevens is de toe- of afname van de stofgehalten ten opzichte van de blanco berekend.

De gehalten van sommige verontreinigingen in het uitgangsmateriaal (blanco, t=0) waren soms hoger dan na blootstelling aan de sedimentmonsters. Dit betrof het kopergehalte, sommige PAK's, PCB-28 en lindaan (Bijlage 18). Dit betekent dat de oligochaeten (een deel) van de stoffen zijn kwijt geraakt en/of dat de stoffen zijn verdund in de organismen. Dit kan bijvoorbeeld doordat de opgenomen hoeveelheid per organisme gelijk is gebleven, maar het drooggewicht (in geval van metalen) of het vetgehalte (in geval van de overige stoffen) is toegenomen. Dit proces wordt ook wel groeiverdunning genoemd. Voor deze stoffen is het zeer lastig om uitspraken te doen over de biologische beschikbaarheid en/of eventuele doorvergiftigingsrisico's. Daarom is verder alleen een beoordeling opgesteld voor de stoffen waarvoor een duidelijke toename in gehalte (³ 30%) ten opzichte van de uitgangssituatie is waargenomen.

Voor een groot aantal stoffen was het gehalte in het uitgangsmateriaal duidelijk lager dan aan het einde van de test. Hier is dus per definitie sprake van bioaccumulatie. Arseen, lood en zink namen bij alle vier sediment-monsters toe. Chroom nam sterk toe in monster G19. Cadmium en kwik waren na blootstelling meetbaar in de oligochaeten, maar namen niet toe tijdens de blootstelling aan het sediment. Uit alle vier de sedimenten werden PAK's geaccumuleerd, het sterkst in G19 en G25 en veel minder in G6 en G15. PCB's en hexachloorbenzeen namen toe voor alle monsters. De DDT-derivaten o,p-DDD en/of p,p-DDD namen toe bij blootstelling aan alle sedimenten, terwijl lindaan niet accumuleerde.

Voor de beoordeling van de biologische beschikbaarheid van stoffen op basis van de resultaten van bioaccumulatietesten kan gebruik worden gemaakt van de volgende criteria (den Besten, 1997):

criteria:	beoordeling biologische beschikbaarheid:
$G/V < 1$	niet verhoogd
$1 \leq G/V < 10$	verhoogd
$G/V \geq 10$	sterk verhoogd

waarbij:

G = Gemeten biota-sedimentaccumulatiefactor (BSAF);

V = Voorspelde BSAF op basis van de evenwicht-partitie theorie⁴ (zie ook den Besten, 1996).

In Bijlage 19 wordt een overzicht gegeven van de beoordeling van de biologische beschikbaarheid van de verschillende stoffen voor de geteste sedimentmonsters. In Tabel 3.9 zijn deze resultaten samengevat.

Voor veel stoffen die wèl meer dan 30% toenamen in de oligochaeten, was de gemeten biota-sedimentaccumulatiefactor (BSAF) lager dan de voorspelde BSAF op basis van de evenwicht-partitie theorie. Voor deze stoffen is de biologische beschikbaarheid niet verhoogd. Op alle lokaties was de biologische beschikbaarheid van lood sterk verhoogd. Op lokatie G15 werd ook een verhoogde biologische beschikbaarheid van zink gevonden en op lokatie G19 van chroom. Daarnaast was op de lokaties G15, G19 en G25 de biologische beschikbaarheid van twee of meer PCB's verhoogd. Op lokatie G15 werd tevens een verhoogde beschikbaarheid van naftaleen gevonden en op lokaties G15 en G19 van p,p-DDD.

Voor een beperkt aantal stoffen zijn Maximum Toelaatbaar Risico (MTR)-criteria beschikbaar (den Besten, 1997). Wanneer deze criteria worden overschreden, dan bestaat er voor de betreffende stof een doorvergiftigingsrisico (in dit geval voor predatoren). De bovengenoemde criteria en de toetsing aan deze criteria is eveneens weergegeven in Bijlage 19. Bij het huidige onderzoek kon er alleen met de MTR's voor PCB-153, hexachloorbenzeen en DDD worden vergeleken. Voor geen van deze verontreinigingen bestaat er een doorvergiftigingsrisico voor predatoren. Aangezien voor een groot aantal van de verhoogd beschikbare stoffen geen MTR-criterium beschikbaar is, kan niet worden ingeschat of hiervoor ook een doorvergiftigingsrisico bestaat. Voor een aantal verbindingen, met name cadmium, kwik, heptachloorepoxide en aldrin, lag de detectiegrens in het materiaal van de oligochaeten boven het MTR-niveau, waardoor eveneens geen uitspraken over het doorvergiftigingsrisico van deze stoffen zijn te doen.

⁴ **Evenwicht-partitie:** Met behulp van bestaande, relatief eenvoudige formules is het mogelijk om in geval van een evenwichtssituatie een schatting te maken van de verhouding tussen de hoeveelheid toxicant die gebonden is aan de waterbodem, opgelost is in het (porie)water en in het testorganisme aanwezig (gebioaccumuleerd) is.

Tabel 3.9 Weergegeven is een overzicht van de biologische beschikbaarheid voor oligochaeten van stoffen voor de in 1999 geteste sedimenten in de vorm van de ratio tussen de bepaalde en voorspelde BSAF. Stoffen waarvoor de toename van de gehalten in de oligochaeten ten opzichte van de blanco < 30% was, zijn niet in de tabel opgenomen (lege vakjes). Stoffen waarvoor een *verhoogde* biologische beschikbaarheid (waarden van 1 tot 10) is gevonden zijn **vet** weergegeven. Stoffen waarvoor een *sterk verhoogde* biologische beschikbaarheid (waarden van 10 en hoger) is gevonden zijn **vet en onderstreept** weergegeven. Stoffen waarvoor een doorvergiftigingsrisico kon worden aangetoond, zijn gearceerd weergegeven.

	99-G6	99-G15	99-G19	99-G25
	307108	307109	307110	307111
Arseen	*	*	*	*
Chroom			2,1	
Lood	<u>15,82</u>	<u>28,5</u>	<u>13,8</u>	<u>24,0</u>
Zink	0,78	3,2	0,8	0,5
Naftaleen		1,2	0,4	
Acenafteen				0,1
Fenanthreen		0,2	0,1	0,04
Pyreen				0,1
Benz(a)anthraceen				0,1
Chryseen				0,1
Benzo(a)pyreen	0,01		0,2	0,03
Anthraceen			0,1	0,02
Benzo(b)fluorantheen	0,03	0,1	0,2	0,03
Benzo(k)fluorantheen			0,2	0,02
Dibenzo(ah)anthraceen			0,2	
Benzo(ghi)peryleen	0,02		0,1	0,01
Indeno(1,2,3cd)pyreen	0,02		0,1	0,01
Fluorantheen				0,1
Hexachloorbenzeen	0,24	0,5	0,2	0,1
PCB-52	0,66		1,1	1,1
PCB-101	0,78		1,1	1,1
PCB-118	0,63			
PCB-138	0,96	1,7	0,8	1,2
PCB-153	1,00	2,1	1,0	1,3
PCB-180	0,61	0,5	0,7	0,9
o,p-DDD			0,9	0,8
p,p-DDD	0,40	1,5	1,8	0,0

* wel >30% toename gehalten na blootstelling, maar geen BSAF en/of MTR bekend.

3.4 Onderzoek 1998

3.4.1. TU-analyses sediment

In Tabel 3.10 wordt een overzicht gegeven van de TU-analyses voor het onderzoek uit 1998. In het analyserapport (AquaSense, 1998) worden de volgende 4 monsters beschreven: W3Z, W3N, W4N en O5Z. Deze monsters werden allen genomen op 18/19 mei 1998 in de Gamerense Waard. De TU-analyses zijn gebaseerd op de chemische analyses in Bijlage 20. De WABOOS-toetsing is te vinden in Bijlage 21. De TU-waarden zijn op dezelfde wijze berekend als in paragraaf 3.2.3. De ruwe resultaten van de TU-analyses zijn te vinden in Bijlage 22.

Uit de analyses bleek dat voor W3Z geen effecten in bioassays te verwachten waren. Er werden inderdaad geen significante effecten waargenomen in de drie betreffende bioassays. Bij monster W3N traden effecten in de *Daphnia*-toets op. Voor deze test bedroeg de TU-waarde voor metalen dan ook 2,66, en voor PAK's 1,90. Echter, in de Microtox- en muggenlarventoetsen traden voor W3N, ondanks een TU-waarde boven de 1, geen effecten op. Bij het sediment van W4N werden effecten gemeten in de Microtox en in de *Daphnia*-toets, maar niet in de test met *C. riparius*, wat overeenkomstig is met de verwachting. Voor O5Z werden in alle drie de bioassays effecten gevonden, maar was alleen de TU-waarde voor *Daphnia* groter dan 1.

Ondanks deze verschillen kwamen de resultaten van deze bioassays uit 1998 veel beter overeen met de verwachtingen op basis van de TU-analyses dan de monsters uit 1999 (paragraaf 3.2.3). De hoogste TU-waarden betroffen net zoals voor de monsters van 1999 vooral nikkel en benzo(ghi)peryleen en in iets mindere mate koper en cadmium (*Daphnia*), nikkel en chroom (*C. riparius*) en anthraceen (Microtox).

3.4.2 Beoordeling resultaten bioaccumulatietesten met sediment monsters genomen in 1998

Hieronder volgen de resultaten en beoordeling van de bioaccumulatietesten met de monsters uit Gameren genomen in 1998.

Op basis van de chemische resultaten van de sedimentmonsters (geleverd door RIZA, Bijlagen 20 en 21) en gehalten in oligochaeten (Bijlage 23), zijn de biologische beschikbaarheid en eventuele doorvergiftiging berekend. De resultaten zijn weergegeven in Bijlage 24 (stofgehalten in de oligochaeten voor en na blootstelling) en Bijlage 25 (biologische beschikbaarheid en doorvergiftiging).

Tabel 3.10. Overzicht van de per testorganisme en sedimentmonster berekende $\Sigma TU_{\text{chemie}}$ -waarden op basis van de geanalyseerde verbindingen en de waargenomen effecten. Alle TU's zijn op basis van NOEC-waarden in mg/kg sediment. $\Sigma TU_{\text{chemie}}$ -waarden > 1 voor alle stofgroepen tezamen zijn gearceerd weergegeven.

test met:	ΣTU Stoffen	<i>Vibrio fischeri</i> (acuut)	<i>Daphnia magna</i> (chronisch)	<i>Chironomus riparius</i> (chronisch)
98-W3Z	metalen	0,01	0,38	0,18
	PAK's	0,00	0,00	0,00
	OCB's	0,00	0,00	0,00
98-W3N	metalen	0,22	2,66	1,55
	PAK's	2,63	1,90	0,75
	OCB's	0,00	0,00	0,00
98-W4N	metalen	0,07	0,96	0,52
	PAK's	1,30	1,53	0,50
	OCB's	0,00	0,00	0,00
98-O5Z	metalen	0,06	0,96	0,55
	PAK's	0,51	1,03	0,23
	OCB's	0,00	0,01	0,00

Daarnaast is er een nieuwe tabel (Tabel 3.11) met de beoordeling van de locaties op basis van de bioaccumulatie data. **In de oorspronkelijk tabel (AquaSense rapport 98.1248) zijn de resultaten van de chemische analyses voor de PAK's uitgedrukt in mg/kg vet, terwijl dit $\mu\text{g}/\text{kg}$ vet moest zijn. Dit was door het uitvoerende chemische laboratorium onjuist weergegeven op de datasheets.** De juiste data zijn alsnog bijgevoegd in Bijlage 23, inclusief een verklarende brief van OMEGAM.

In Tabel 3.11 wordt voor de stoffen, waarvan de gehalten in de oligochaeten door blootstelling aan de sedimenten in 1998 met meer dan 30% toenamen, getoond of er sprake was van een verhoogde biologische beschikbaarheid of van overschrijding van het MTR (zie paragraaf 3.3 voor uitleg). Op de locaties W3Z en W3N was sprake van een (sterk) verhoogde beschikbaarheid van metalen en werd het MTR voor cadmium overschreden. Op de locaties W4N en O5Z was dit eveneens het geval en werd tevens een verhoogde beschikbaarheid van PCB's waargenomen en het MTR voor kwik overschreden.

Zoals al eerder vermeld waren de toxische effecten voor de verschillende organismen in 1998 significant hoger dan die in 1999. Een deel van de verklaring hiervoor zou kunnen liggen in het verschil in biologische beschikbaarheid van met name de zware metalen. Deze waren in 1998 voor zowel cadmium, lood als kwik, verhoogd tot sterk verhoogd, terwijl in 1999 dit alleen voor lood werd waargenomen.

Tabel 3.11 Weergegeven is een overzicht van de biologische beschikbaarheid voor oligochaeten van stoffen voor de in 1998 geteste sedimenten in de vorm van de ratio tussen de bepaalde en voorspelde BSAF. Stoffen waarvoor de toename van de gehalten in de oligochaeten ten opzichte van de blanco < 30% was, zijn niet in de tabel opgenomen (lege vakjes). Stoffen waarvoor een *verhoogde* biologische beschikbaarheid (waarden van 1 tot 10) is gevonden zijn **vet** weergegeven. Stoffen waarvoor een *sterk verhoogde* biologische beschikbaarheid (waarden van 10 en hoger) is gevonden zijn **vet en onderstreept** weergegeven. Stoffen waarvoor een doorvergiftigingsrisico kon worden aangetoond, zijn gearceerd weergegeven.

	W3Z	W3N	W4N	O5Z
	303700	303701	303702	303706
Cadmium	<u>62.5</u>	0.67	7.9	3.6
Chroom	5.77	0.21	5.2	1.4
Kwik	<u>15.56</u>	1.1	8.7	5.8
Lood	<u>88.88</u>	<u>11.6</u>	<u>34.4</u>	<u>48.5</u>
Nikkel	*	*	*	*
Zink		*		
Naftaleen	0.36	0.04		0.06
Acenaftyleen			0.59	
Acenafteen	0.09	0.03	0.30	0.14
Fluoreen	0.31	0.01	0.03	0.06
Pyreen		0.35		
Benzo(a)anthraceen		0.20	0.20	
Chryseen		0.03	0.26	
Benzo(a)pyreen		0.07	0.06	
Anthraceen		0.03	0.07	0.06
Benzo(b)fluorantheen		0.16	0.09	
Benzo(k)fluorantheen		0.09	0.06	
Benzo(ghi)peryleen		0.05	0.09	
Indeno(1,2,3cd)pyreen		0.04	0.05	
Fluorantheen		0.21		
PCB-52				1.4
PCB-101				2.7
PCB-118				2.9
PCB-138			3.0	3.9
PCB-153			3.4	2.5
PCB-180			2.6	1.2
Dieldrin		0.38	0.162	0.08
p,p-DDE				5.6
o,p-DDE				
p,p-DDD			7.0	0.9

* wel >30% toename gehalten na blootstelling, maar geen BSAF en/of MTR bekend.

4. Conclusies

Het doel van het onderhavige onderzoek in de Gamerense Waard in 1999 was om via analyse van biologische gegevens volgens de TRIADE-benadering te komen tot een beoordeling van de onderzochte lokaties. Wanneer de resultaten van het onderzoek worden beoordeeld, dan blijkt het volgende. Er werden voor geen van de vier sedimentmonsters significante effecten waargenomen in de drie standaard TRIADE-testen, te weten de Microtox[®] (bacterie *Vibrio fischeri*), de chronische *Daphnia*-test (watervlo) en de chronische test met de muggenlarve *Chironomus riparius*. Op basis van TU-analyses werden in meerdere sedimenten wèl effecten verwacht, maar kennelijk was de biologische beschikbaarheid van bepaalde verontreinigingen lager dan verwacht. Deze verlaagde biologische beschikbaarheid was met name bij de PAK's evident, ondanks de enorme toename van de concentratie in de oligochaeten die voor sommige stoffen gevonden werd.

Er werden wèl (lichte) effecten waargenomen in de acute testen met de rotifeer *Brachionus calcalycyflorus* (op lokatie G19) en met nauplii van de spookgarnaal *Thamnocephalus platyurus* (op alle vier de locaties).

Opname door oligochaeten van verontreinigingen uit het sediment was in alle vier de monsters het sterkst voor lood en hexachloorbenzeen. Ook andere metalen (arsen, zink), diverse PAK's, PCB's en DDD namen toe in de oligochaeten ten opzichte van de blanco. Dit (blanco) uitgangsmateriaal voor deze testen bevatte echter reeds hoge concentraties koper, zink, PAK's, lindaan en PCB's, waardoor een toename onder invloed van de sedimentmonsters niet voor alle stoffen kon worden vastgesteld. Om dit te voorkomen is het in het vervolg aan te raden de oligochaeten voor een korte periode voor te kweken op een schoon (b.v. Drontmeer) sediment, zodat de concentraties contaminanten in het uitgangsmateriaal op een acceptabel niveau kunnen worden teruggebracht. Daarnaast zouden er eventueel randvoorwaarden voor de gehalten aan contaminanten in het

uitgangsmateriaal opgesteld kunnen worden, zodat er altijd met materiaal van een constante kwaliteit gestart kan worden.

Voor enkele (groepen) verbindingen werd een verhoogde biologische beschikbaarheid vastgesteld. Deze was sterk verhoogd voor lood in alle vier de monsters en enigszins verhoogd voor zink in monster G15 en voor chroom in monster G19. Voor de lokaties G15, G19 en G25 werd een verhoogde beschikbaarheid van enkele PCB's gemeten en voor voor lokaties G15 en G19 eveneens voor p,p-DDD.

Overschrijdingen van Maximaal Toelaatbare Risiconiveau's (MTR's) voor doorvergiftiging werden niet waargenomen, maar MTR-waarden waren slechts voor een beperkt aantal van de in het huidige onderzoek accumulerende verbindingen beschikbaar.

Zowel qua toxiciteit als qua bioaccumulatie (en doorvergiftiging) is het risico van de door AquaSense geanalyseerde sedimentmonsters van de Gamerense Waard uit 1999 lager dan dat van de monsters uit 1998.

5. Literatuur

- AquaSense (1998). Ecotoxicologisch onderzoek in de Gamerense Waard - 1998b - In opdracht van: Rijksinstituut voor Integraal Zoetwaterbeheer en Afvalwaterbehandeling, Lelystad. Rapport nr. 98.1248b.
- Besten, P. den (1996). Biologische beschikbaarheid van contaminanten in verouderd sediment. Resultaten bioaccumulatie-bioassays met Oligochaeten in sediment uit Dordtsche Biesbosch en Geulhaven. Werkdocumentnr. 95.176X, RIZA, Lelystad.
- Besten, P. den (1997). Biotisch effectonderzoek Hollandsch Diep en Dordtsche Biesbosch. Nader onderzoek waterbodempkwaliteit. Rapportnr 97.098, RIZA, Lelystad.
- Creasel (1990). ROTOXKIT F™. Rotifer toxicity screening test for freshwater, standard operational procedure. V071090.
- Creasel (1992). THAMNOTOXKIT F™. Crustacean toxicity screening test for freshwater, standard operational procedure. V241092.
- Grootelaar E.E.M. & R. Mulder (1991). Handleiding voor het kweken van de muggelarf *Chironomus riparius*. S.O.P., RIZA Lelystad, AOCE/06 uitgave nr 3.
- ISO 6341 (1989). Water quality - Determination of the inhibition of the mobility of *Daphnia magna* Straus (*Cladocera*, *Crustacea*)
- Maas, J.L., C. van de Guchte & F.C.M. Kerkum (1993). Methodebeschrijvingen voor de beoordeling van verontreinigde waterbodems volgens de TRIADE-benadering. Methodebeschrijvingen voor enkele bioassays, bioaccumulatiemetingen en veldstudies. RIZA notanr. 93.027, juli, 1993.
- Ministerie van Verkeer en Waterstaat (1994). Evaluatienota Water. Tweede Kamer, vergaderjaar 1993-1994, 21 250, nrs. 27-28.
- NVN 6516 (1993). Water - Bepaling van de acute toxiciteit met behulp van *Vibrio fischeri*. Nederlands Normalisatie Instituut, Delft, augustus 1993.
- Norusis, M.J. (1992). SPSS® for Windows™. Base System User's Guide, Release 5.0. SPSS Inc. Chicago).
- RIZA (1996). RIZA Handboek 'Toxicologie en lozingsvergunningen' (concept). J. Botterweg (red.). Notanr. 96.045. Rijksinstituut voor Integraal Zoetwaterbeheer en Afvalwaterbehandeling RIZA, Lelystad.

STOWA (1997). Ecotoxicologische risicobeoordeling van verontreinigde waterbodems. RIZA nota nr. 97.085.

Tidepool (1995). ToxCalc user's guide. Comprehensive toxicity data analysis and database software. Version 4.0 for microsoft Excel under Windows 3.1 or Apple Macintosh. Tidepool Scientific Software.

Bijlagen