



José Vos, Rijksinstituut voor Volksgezondheid en Milieu
 Esther van der Grinten, Rijksinstituut voor Volksgezondheid en Milieu
 Hannie Maas, Rijkswaterstaat Waterdienst

Bioassays als diagnosemiddel voor waterkwaliteitsbeheerders bij ontoereikende ecologische kwaliteit

Als de standaard chemische analyses te kort schieten om problemen met de ecologische kwaliteit van oppervlaktewater te verklaren, dan kunnen bioassays met water uit de probleemgebieden als diagnosemiddel ingezet worden. De potentiële toxiciteitsmethode (pT-methode), die door het RIVM ontwikkeld is en een vijftal bioassays omvat, is een manier om de toxische druk van (onbekende) organische stoffen in oppervlaktewater in te schatten. De pT-waarde geeft inzicht in welk percentage van de soorten te lijden heeft van de organische stoffen in het bemonsterde oppervlaktewater. In 2007 is samen met het RIZA (nu de Waterdienst) en drie waterschappen ervaring opgedaan met de pT-methode en de specifieke bioassays. Dit programma wordt dit jaar voortgezet.

Als oppervlaktewateren niet voldoen aan de goede ecologische toestand en de oorzaak niet bekend is, dan verplicht de Kaderrichtlijn Water te onderzoeken welke oorzaken hier aan ten grondslag liggen. Als de oorzaken niet geïdentificeerd kunnen worden vanuit de reguliere chemische monitoring of vanuit de expertise van de waterkwaliteitsbeheerders, dan wordt 'nader onderzoek' ingezet: de diagnose moet immers gesteld worden om het mogelijk te maken adequate maatregelen te nemen.

Ter ondersteuning van monitoring voor het nader onderzoek ontwikkelde Royal Haskoning de handreiking Diagnostiek Ecologische kwaliteit van Watersystemen¹⁾. Deze geeft de waterkwaliteitsbeheerder inzicht in mogelijke oorzaken van de onvoldoende score op de biologische en/of chemische maatlaten. Hierbij worden instrumenten aangereikt die die oorzaken kunnen identificeren. Bioassays worden hierbij ook genoemd, maar de uitvoering ervan wordt niet verder uitgewerkt in de handreiking.

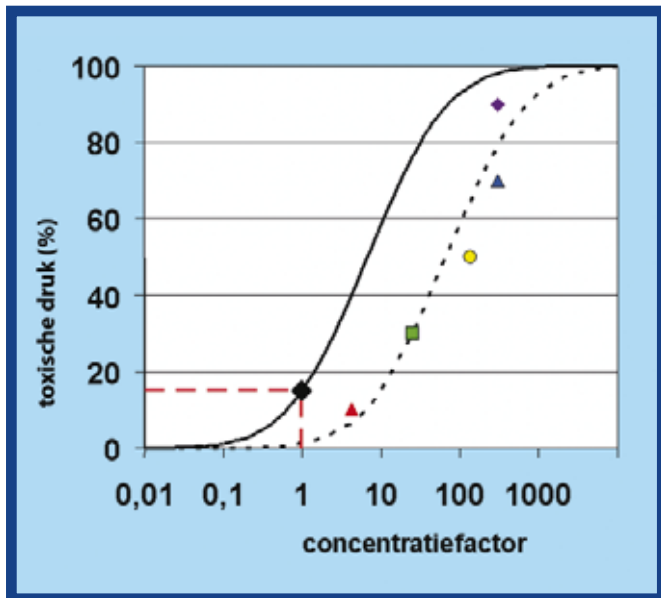
Toxische druk

De pT-methode is een methode waarmee organische stoffen uit bemonsterd opper-

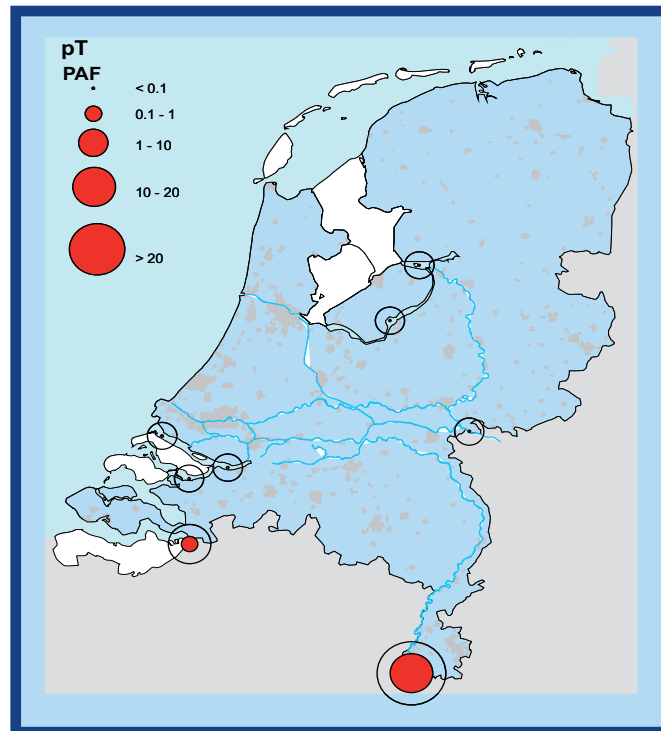
vaktewater geëxtraheerd en geconcentreerd worden (met behulp van hars), gevolgd door een analyse daarvan met een set van vijf verschillende bioassays (zie kader). Het concentraat van een oppervlaktewatermonster wordt in een hoeveelheid standaard water opgelost. De oplossing wordt getest met de vijf bioassays, zodat men de toxiciteit van de organische stoffen in het oorspronkelijk bemonsterde oppervlaktewater voor de geteste soorten kan schatten. Hierbij wordt rekening gehouden met het aantal keer dat de organische stoffen uit het oppervlaktewater geconcentreerd zijn. De organische stoffen kunnen bestrijdingsmiddelen en hun afbraakproducten zijn, maar ook hormonen, hormoonachtige stoffen, geneesmiddelen of producten die in huishoudens gebruikt worden. Uit de vijf bioassayresultaten wordt uiteindelijk één pT-waarde voor het monster berekend. Verschillen in pT-waarde duiden op verschillen in de potentiële toxiciteit van onbekende mengsels voor de geteste soorten, maar daarmee ook voor de lokaal voorkomende soorten²⁾. Als de pT verschilt in ruimte of tijd, duidt dit op verschillen in toxische druk tussen de monsterplekken en tijdstippen van bemonstering.

Als met de pT-methode toxiciteit wordt gemeten, kan de toxische druk van het mengsel van de onbekende organische stoffen een verklaring vormen voor ecologische problemen in het oppervlaktewater. Hoe meer de organische stoffen in het oppervlaktewater geconcentreerd moeten worden om toxiciteit in de bioassays te zien, des te lager de toxische druk in het oorspronkelijke oppervlaktewater. En andersom: hoe minder de organische stoffen in het oppervlaktewater geconcentreerd moeten worden om toxiciteit te zien in de bioassays, des te toxischer de hoeveelheden organische stoffen in het bemonsterde oppervlaktewater. Ofwel: door toepassing van de concentratietechniek kan het risico op toxische effecten van verontreinigingen gekwantificeerd worden (zie kader). Afbeelding 1 visualiseert de pT-benadering.

De pT-methode geeft de volgende zekerheid: op het moment dat bij een hoge concentratiefactor voor het oppervlaktewater een lage toxiciteit van dat water gemeten wordt, kan met redelijke zekerheid worden gesteld dat de toxiciteit van de geteste onbekende mengsels van organische stoffen geen (grote) negatieve invloed zullen hebben op de ecologische toestand van het opper-



Afb. 1: De resultaten van effectwaarnemingen in een testbatterij met acute toetsen worden gebruikt om te bepalen welke fractie van soorten uit het natuurlijke systeem te lijden zou hebben van het onbekende mengsel. De gekleurde symbolen zijn de acute effectwaarnemingen in de bioassays, en de stippellijn is de acute verdeling daarvan (SSD). De chronische risico's worden daaruit afgeleid via de doorgetrokken curve met een extrapolatiefactor van 10. Het resultaat daarvan is de toxische druk, namelijk de potentieel aangetaste fractie bij een concentratiefactor 1. Voorbeeld van locatie Eijsden (pT is 15%) (monitoring juli 2005).



Afb. 2: Toxische druk van watermonsters die genomen zijn op verschillende locaties in Nederland (MWTL-monitoring juli 2005). De pT is bij de instroompunten van Schelde en Maas verhoogd.

vlaktewater. De pT-methode geeft hiermee meer zekerheid over toxiciteit als mogelijke oorzaak dan het relatief beperkt aantal chemische stoffen die worden gemeten. In het geval dat de pT-methode laat zien dat organische stoffen waarschijnlijk geen negatief effect hebben op de ecologie, dan kan gericht verder gezocht worden naar andere stressoren, zoals hydromorfologische belastingen of metalen.

2009

Dit jaar coördineert het RIVM een project waarin de waterkwaliteitsbeheerders bioassays uit kunnen laten voeren ter ondersteuning van het stellen van een diagnose over een waterkwaliteitsprobleem. De algemene pT-methode vormt de technische basis voor het project. Daarnaast kan gekozen worden voor bioassays die reageren op een nauwe en specifieke range van stoffen. De ER-Caluxtest signaleert bijvoorbeeld hormoonverstorende (oestrogene)

activiteit van oppervlaktewatermonsters en kan specifiek ingezet worden als verwacht wordt dat hormonen het oppervlaktewater vervuilen. De zogeheten multibacterietest detecteert en typeert effecten van antibiotica³⁾. Deze test kan ingezet worden bij ziekenhuizen of rioolwaterzuiveringsinstallaties, als niet uitgesloten kan worden dat deze stoffen het oppervlaktewater bereiken en beïnvloeden. De bioassays die binnen de algemene pT-methode vallen, kunnen ook worden gebruikt om het vermoedelijke werkingsmechanisme (en dus de stofgroepen) achter de toxiciteit te typeren. De PAM-test is specifiek gevoelig voor herbiciden die aangrijpen op het fotosynthese-apparaat en de Daphnia-test voor insecticiden.

Technisch bestaat de pT-methode uit het verzamelen en 'indikken' (concentreren) van de organische stoffen in monsters uit oppervlaktewateren in Nederland, gevolgd door het meten van effecten op verschillende soorten in een concentratiereeks van die geconcentreerde monsters. De bioassay-'testbatterij' bestaat daarbij uit vijf testen, waarbij acute effecten worden gescoord. Voor de pT-methode worden de Microtox-test (bacteriën), de PAM-test (algen), de Daphnia IQ-test (watervlooiën), de Thamnotoxtest: kleine kreeftachtige) en Rotoxtest (rotiferen) uitgevoerd. De afzonderlijke meetresultaten van de acute bioassays worden omgezet naar een soortengevoeligheidsverdeling⁴⁾. Hiermee wordt afgeleid welke fractie van soorten in het natuurlijke systeem op chronische tijdschaal potentieel te lijden zou hebben van het onbekende mengsel organische stoffen (zie afbeelding 1). Bij een concentratiefactor van 1 op de X-as wordt afgelezen hoe groot de potentieel aangetaste fractie van soorten in het systeem zou zijn bij blootstelling aan het watermonster met het onbekende mengsel. De potentieel aangetaste fractie wordt binnen deze methode de pT of potentiële toxische druk genoemd. Locaties kunnen op deze manier in de tijd en in de ruimte met elkaar vergeleken worden (zie afbeelding 2). Hiermee kan bijvoorbeeld prioritering van locaties voor het nemen van maatregelen onderbouwd worden, of kan het effect van emissie-reductiemaatregelen gemeten worden.

In 2007 is al ervaring opgedaan met de pT-methode en aanvullende bioassays in het project 'Schaduwdraaien KRW-monitoring 2007', dat samen met de Waterdienst werd uitgevoerd⁴⁾. Op een aantal monsterpunten is toen hormoonverstorende activiteit aangetoond en in een gebied met bollen-spoelers zijn toxische effecten van een pesticide gevonden. De toepassing van bioassays heeft aannemelijk gemaakt dat een pesticide dat alleen is toegestaan voor gebruik in gesloten ruimtes, het oppervlaktewater bereikt en hier verhoogde negatieve effecten op de ecologie kan veroorzaken.

De pT-methode kan ingezet worden als eerste screening: als men met de pT-methode effecten signaleert, dan zouden ook effecten in het originele oppervlaktewater verwacht kunnen worden. Als de pT-methode geen effecten van het bemonsterde oppervlaktewater laat zien, dan zullen de organische stoffen zeer waarschijnlijk niet de negatieve effecten op het ecosysteem hebben veroorzaakt. Hiermee is de pT-methode een eerste stap in de zoektocht naar de factoren die de kwaliteit van het aquatisch ecosysteem bepalen.

Wanneer pT-methode toepassen?

De pT-methode kan worden toegepast voor de diagnose van mogelijke oorzaken bij problemen met de ecologische status van oppervlaktewateren:

- Als geverifieerd of uitgesloten moet worden of effecten op de ecologie



PAM-opstelling voor het meten van fotosynthese-efficiëntie in algen.



Hars gebruikt voor extractie van oppervlaktewatermonsters.

veroorzaakt worden door stoffen die niet standaard gemeten zijn;

- Als chemische analyses op het oppervlaktewater zijn uitgevoerd maar deze niet afdoende inzichtelijk maken of die stoffen effecten veroorzaken. Dit kan bijvoorbeeld het geval zijn als de concentraties van de gemeten stoffen allen onder hun normen liggen, maar wel verhoogde concentraties laten zien, er geen normen voor de gemeten stoffen zijn, de rapportagegrens van stoffen boven de norm liggen zodat niet met zekerheid aangetoond kan worden of deze stoffen de norm overschrijden én als niets bekend is over de effecten van de mengseltoxiciteit van de stoffen ter plaatse. In wateren in landbouwgebieden worden bijvoorbeeld naast bestrijdingsmiddelen ook zware metalen gevonden. Omdat in de concentratietechniek metalen niet worden meegenomen, kan de pT-methode de effecten van de bestrijdingsmiddelen en hun afbraakproducten eruit lichten;
- Als overwogen wordt een (dure) stofgerichte maatregel te nemen. De waterkwaliteit bovenstrooms is te schatten, zodat de waterbeheerder kan concluderen of de maatregel wel het verwachte effect zal hebben;
- Voor het inschatten van de effecten van bijvoorbeeld een viskwekerij, rioolwaterzuiveringsinstallatie of ziekenhuis op de waterkwaliteit, door bioassays uit te laten voeren met water dat stroomopwaarts en -afwaarts van een zuivering is gemonsterd.

De locatiekeuze en data van monsternamen zullen in samenspraak met de waterkwaliteitsbeheerder moeten worden bepaald. Het streven hierbij is dat monsternamen voor de pT-methode gelijk loopt met monsternamen voor chemische analyses en ecologische analyses. Monsterpunten worden gekozen op locaties met slechte ecologische toestand. De waterkwaliteitsbeheerder zal zelf de bemonsteringen uitvoeren en de extractie en bioassays uitbesteden bij bureaus met de benodigde expertise. De waterkwaliteitsbeheerders kunnen aanvullende chemische gegevens en ecologische gegevens (inclusief KRW-maatlatscores) aanleveren en gegevens over het gebruik van het gebied. Het RIVM gebruikt deze informatie om de resultaten van de specifieke bioassays en de algemene pT-methode uit te leggen en te onderbouwen.

Waterkwaliteitsbeheerders die interesse hebben in het toepassen van de pT-methode of andere bioassays, kunnen contact opnemen met Esther van der Grinten van het RIVM: (030) 274 41 57.

LITERATUUR

- 1) Van Riel M. en R. Knoben (2007). Handreiking Diagnostiek Ecologische kwaliteit van Watersystemen. Royal Haskoning. In opdracht van Rijkswaterstaat (RIKZ en RIZA).
- 2) Posthuma L., G. Suter II en T. Traas (eds.) 2002. Species sensitivity distributions in ecotoxicology. Lewis Publishers, pag. 133-154.
- 3) Pikkemaat M., S. Oostra-van Dijk, J. Schouten, M. Rapallini en H. van Egmond (2008). A new microbial screening method for the detection of antimicrobial residues in slaughter animals: The Nouws antibiotic test (NAT-screening). Food Control 19, pag. 781-789.

- 4) Rotteveel S., E. van der Grinten, L. Dirven-van Breemen en J. Maas (2009). Effect gericht meten in het waterkwaliteitsbeheer. Een verkenning van de toepassing van bioassays in de operationele KRW-monitoring en het regionaal waterkwaliteitsbeheer. Rapport RWS-Waterdienst en RIVM. In voorbereiding.