



Algen en watervlooien bewaken drinkwaterproductie van Zuidwest-Nederland

ARCO WAGENVOORT, WATERWINNINGBEDRIJF BRABANTSE BIESBOSCH

KARINA PIKAAR-SCHOONEN, WATERWINNINGBEDRIJF BRABANTSE BIESBOSCH

CORINA DE HOOGH, KIWA WATER RESEARCH

HENK KETELAARS, WATERWINNINGBEDRIJF BRABANTSE BIESBOSCH

Voor de bewaking van de waterkwaliteit ten aanzien van organische microverontreinigingen, met name de herbiciden die in voorgaande jaren voor problemen hebben gezorgd, implementeert Waterwinningbedrijf Brabantse Biesbosch momenteel twee chemische meetsystemen (HPLC-DAD en GC/MS). In aanvulling hierop en voor de bepaling van de acute toxiciteit van het Maaswater worden een algen- en een Daphnia-toximeter (zie afbeelding 2) gebruikt. Hoewel zij geen gehalten aan toxische stoffen meten, hebben ze wel een aantal voordelen ten opzichte van chemische meetsystemen. Chemische meetsystemen meten één tot enkele malen per dag, waarbij een beperkt aantal, vooraf aangegeven en onbekende verbindingen, gedetecteerd wordt. Een biologisch bewakingssysteem registreert continu de acute toxiciteit. Het is niet gevoelig voor alle stoffen, maar wel voor een breed scala aan stoffen, die niet vooraf gedefinieerd zijn. Bij WBB was de keuze voor biologische meetsystemen ingegeven door de stofgroepen die in de Maas waterkwaliteitsproblemen kunnen veroorzaken. WBB valideerde beide meetsystemen en zette een kwaliteitsborging²⁾ op. De ervaringen hiermee worden toegelicht aan de hand van een calamiteit die afgelopen zomer optrad.

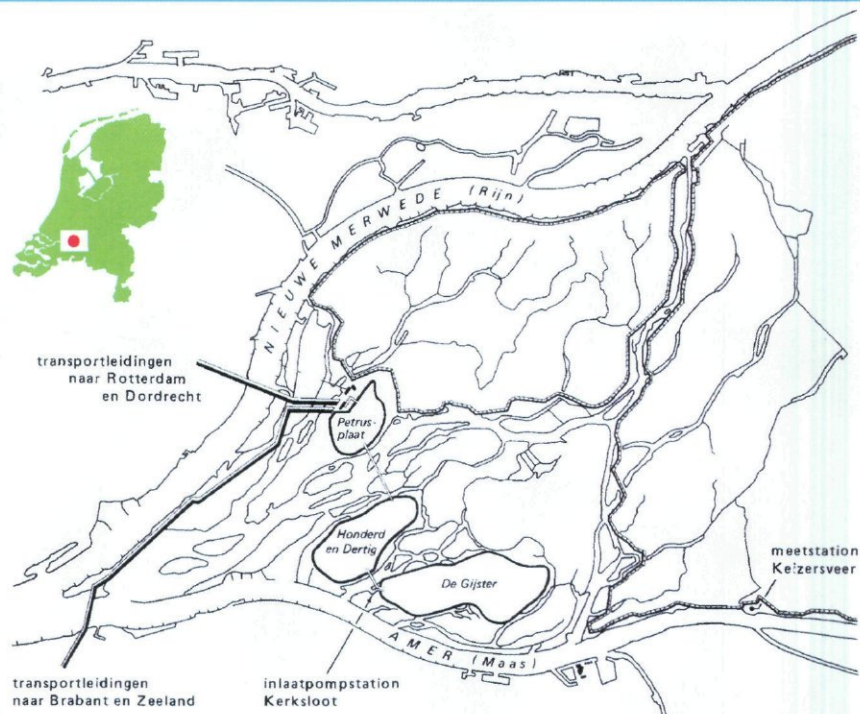
Op beide biologische bewakingssystemen werd toen een overschrijding van de vastgestelde alarmgrenzen gemeld. De remming van de fotosynthese van de testalg (*Chlorella vulgaris*) van de algentoximeter gaf voor het eerst laat op de avond van 1 juli een overschrijding te zien (afbeelding 3). Deze overschrijding bleef, op een korte onderbreking na, aanwezig tot de avond van 3 juli. Hierna nam de remming snel af tot het normale basisniveau. In de vroege ochtend van 3 juli nam de zwemsnelheid van de watervlooien (*Daphnia magna*) snel toe en kwam ruim boven de referentiewaarden voor normaal gedrag van watervlooien uit (afbeelding 4). Tijdens de verhoogde zwemsnelheid op 3 juli nam de toxiciteitsindex ook een aantal keren toe als gevolg van uitschieters in de zwemsnelheid. De Hinkley- en gradiënt-detectors van de zwemsnelheid en de spreiding op de zwemsnelheid werden aangesproken. Het tijdsvenster waarin dit gebeurde was echter te lang om de grens van 10 te bereiken of te overschrijden. Dit is in overeenstemming met de veronderstelling waarvan WBB tijdens de implementatie is uitgegaan. Deze afwijkin-

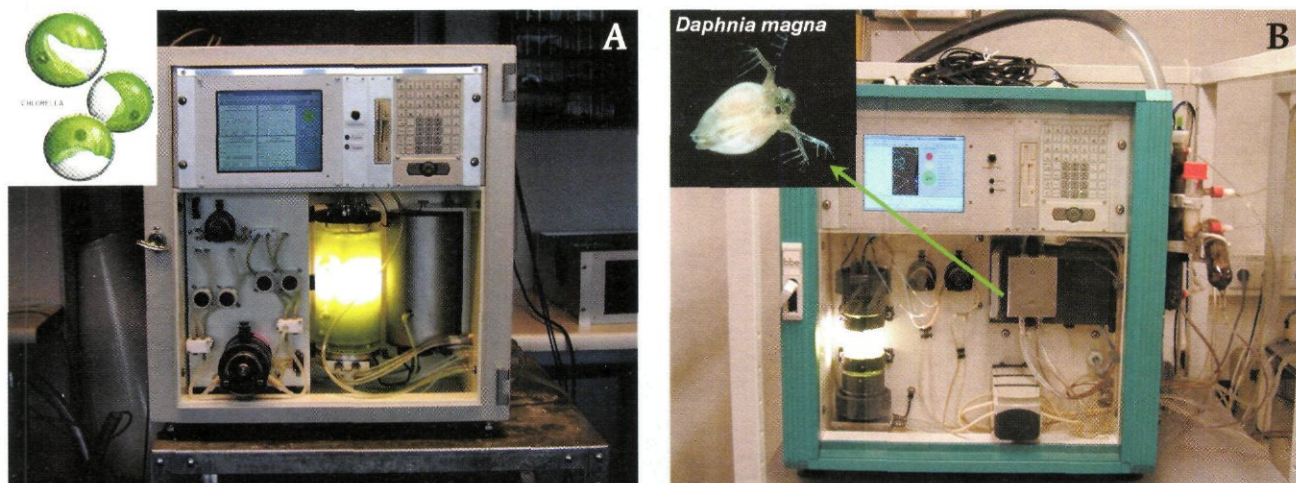
De grootste knelpunten voor de waterkwaliteit van de Maas vormen de hoge nutriëntbelasting, de microbiële belasting door (on)gezuiverde rioolwaterlozingen, diffuse bronnen (met name van herbiciden) en industriële lozingen (onder andere fluoride en bromide)¹⁾. Daarnaast kunnen incidentele lozingen optreden, door de industrie of als gevolg van scheepvaartongelukken. Om een verslechtering van de waterkwaliteit van de Maas vroegtijdig te kunnen detecteren, startte WBB in 2001 met de implementatie van een 'early warning'-systeem op het RIZA/WBB-meetstation te Keizersveer. Dit meetstation ligt circa tien kilometer stroomopwaarts van het inname-werk van spaarbekken De Gijster (zie afbeelding 1). Hierdoor bestaat in het geval van een calamiteit een zekere responstijd en kan de monitoring ook tijdens een inname-stop doorgaan.

gen werden aangemerkt als een alarm. In de namiddag van 3 juli werden nieuwe proefdiëren ingezet en kon de verhoging van de zwemsnelheid niet langer worden vastgesteld. Naar aanleiding van de alarmmeldingen is de inname van Maaswater in het spaarbekken De Gijster gestaakt.

Op 4 juli werd een controlemeting uitgevoerd om de werking van de algentoximeter te borgen (afbeelding 3). De remming van dit controlemonster bedroeg 4,1 procent (3,4 tot 4,9 procent). Het controlemonster voldeed aan

Afb. 1: De geografische ligging van de spaarbekkens en het meetstation te Keizersveer.





Afb. 2: BBS op het meetstation te Keizersveer. A: algtoximeter en B: Daphnia-toximeter.

de gestelde criteria, waaruit geconcludeerd mag worden dat het waargenomen alarm een reëel alarm was. De Maaswaterkwaliteit heeft dus een verslechtering voor algen laten zien die sterker was dan de remming bij de controlemeting. Hieruit werd geconcludeerd dat de waterkwaliteit slechter was dan het equivalent van 2 µg diuron/l.

Om de werking van de Daphnia-toximeter te borgen werd op 4 juli een controlemeting uitgevoerd (afbeelding 4). De toxiciteitsindex van dit controlemonster bereikte na 55 minuten de grens van 10, als gevolg van veranderingen in de zwemsnelheid en de vorm van de zwembaan. Het controlemonster voldeed aan de gestelde criteria, waaruit geconcludeerd mag worden dat het alarm van 3 juli een reëel alarm was.

Geen reactie fysische en chemische sensoren

De meetgegevens van de fysische en chemische sensoren van het Maaswater op het meetstation lieten weliswaar enige variatie

zien, maar noemenswaardige verschillen traden niet op (afbeelding 5). Meerdere achtereenvolgende overschrijdingen van de dubbelsigma-grenzen (gemiddelde $\pm 2 \times$ standaarddeviatie) werd alleen bij de temperatuur eenmalig waargenomen. Normaal optredende verschijnselen, zoals extreme regenval of slibgolven, leiden tot een duidelijk waarneembare verandering van de waterkwaliteit die met de fysische en chemische sensoren wordt gedetecteerd als duidelijke variatie en dubbelsigma-overschrijdingen. De resultaten van de sensoren gaven aan dat in de betreffende periode geen verandering van de Maaswaterkwaliteit als gevolg van dit soort verschijnselen optrad. De HPLC-DAD op het meetstation mat slechts een laag gehalte van de herbicides diuron en atrazine (tabel 1). Aanvullend zijn dagverzamelmonsters van 2 en 3 juli bij meetstation Keizersveer naar het RIZA-meetstation te Eijdsden gestuurd en daar gemeten op het SAMOS-systeem dat met behulp van de HPLC-techniek goed oplosbare verbindingen meet. In tabel 1 staan de resultaten. Naast diuron werd 2,6-dimethylaniline (een aromatisch amine)

gedetecteerd. Verder werd een aantal onbekende verbindingen aangetroffen met een indicatief gehalte van maximaal 2,3 µg/l voor een afzonderlijke component en 5 µg/l voor de som van alle onbekende verbindingen. Met uitzondering van diuron werden alle aangetroffen componenten in de voorgaande periode niet aangetroffen in het Maaswater te Eijdsden. Dit betekent dat de Maas in het Nederlandse gedeelte is verontreinigd met de aangetroffen componenten. 2,6-Dimethylaniline is een bekende industriële verontreiniging.

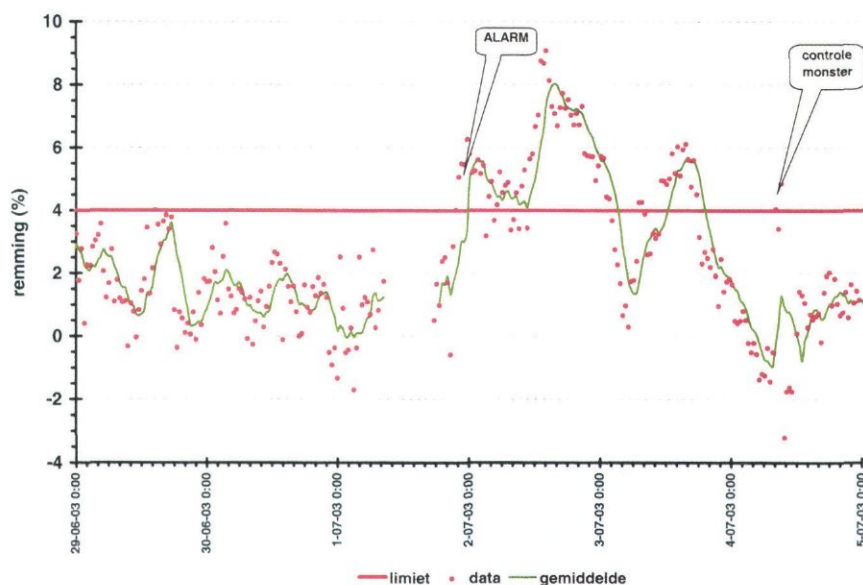
Werkingsmechanisme algtoximeter

De algtoximeter meet de toxiciteit van een watermonster. De sensoren bij deze meting zijn algen die reageren op schadelijke stoffen door veranderingen in hun fotosynthetisch gedrag. Ongeveer 98 procent van de totale energie die door algen wordt opgenomen, wordt gebruikt voor fotosyntheseprocessen, zuurstofproductie en vorming van energiedragers of wordt afgevoerd in de vorm van warmte. De overige twee procent wordt uit-

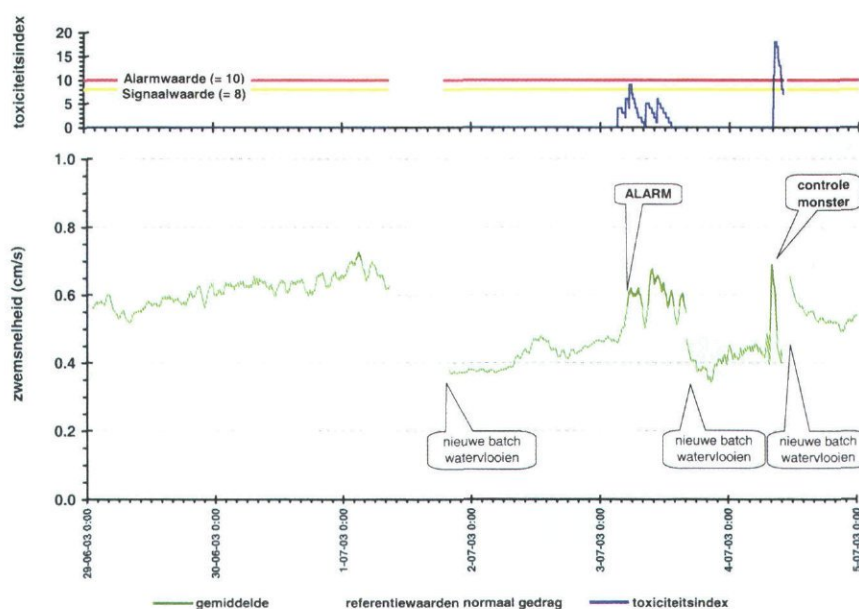
Tabel 1: Chemische componenten in de Maas te Keizersveer

component	concentratie (µg/l)				opmerkingen
	2 juli 2003		3 juli 2003		
	HPLC- Keizersveer	SAMOS- Eijdsen	HPLC- Keizersveer	SAMOS- Eijdsen	
onbekend RT 19.75 min.		1.6		1.4	bibliotheek geeft 2,6-dimethylaniline (L=962)
onbekend RT 21.59 min.		1.2		1.2	
atrazine	0.1		0.1		
diuron	0.2	0.24	0.2	0.23	er kan een spoor diazinon aanwezig zijn, maar niet detecteerd op SIVEGOM (GC-MS).
onbekend RT 39.82 min.		0.9	1.2		
onbekend RT 41.33 min.		1.9		2.3	

RT = retentietijd



Afb. 3: Algentoximeter, remming van de fotosynthese van de groenalg bij blootstelling aan Maaswater.



Afb. 4: Daphnia-toximeter, toxiciteitsindex en zwemsnelheid van watervlooiën bij blootstelling aan Maaswater.

gestraald in de vorm van fluorescentie. Als het fotosyntheseproses wordt geremd (bijvoorbeeld door herbiciden), wordt de overtollige energie gedeeltelijk ook afgevoerd via fluorescentie. Grofweg kan worden gesteld dat hoe slechter de fotosynthese verloopt, des te meer fluorescentie optreedt. In de algentoximeter bevindt zich een continu-cultuur van de groenalg *Chlorella vulgaris*.

Een monster van algen wordt blootgesteld aan rivierwater en een tweede algenmonster wordt blootgesteld aan kraanwater. Na een vooraf ingestelde blootstellingsduur wordt de activiteit van de algen (fluorescentie) van de beide monsters gemeten en wordt uit de onderlinge verhouding de fotosyntheseremming berekend. Als deze remming een ingestelde grens overschrijdt, wordt een alarm gegenereerd.

Werkingsmechanisme Daphnia-toximeter

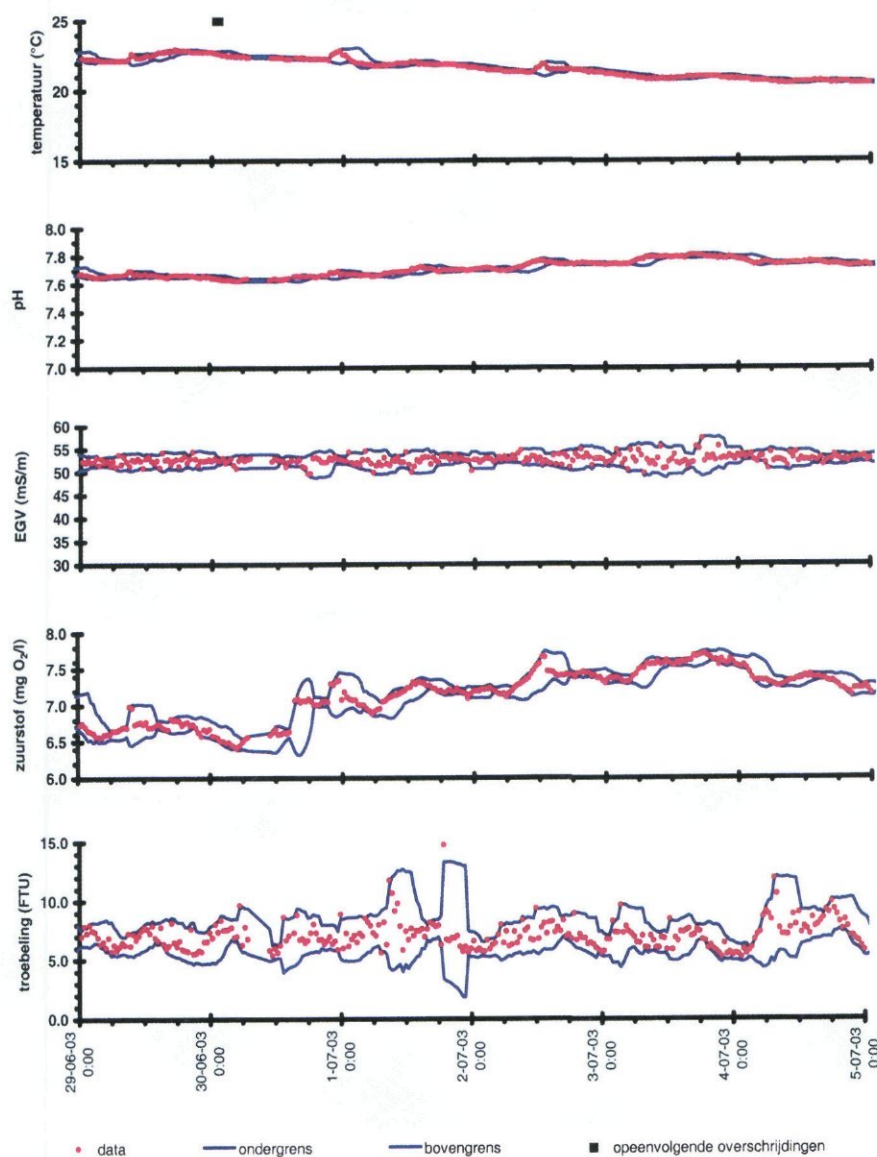
De Daphnia-toximeter is ontwikkeld met het doel om de beschikking te hebben over een on-line toxiciteitstest met *Daphnia magna* als proefdier. Dit organisme wordt ook in acute en chronische toxiciteitstesten gebruikt. In de test wordt het zwemgedrag geregistreerd door middel van digitale beeldverwerking en een continue evaluatie. Onder normale omstandigheden is het zwemgedrag van *Daphnia* relatief rustig. Onder invloed van toxische stoffen kunnen de watervlooiën ofwel veel langzamer of juist veel sneller gaan bewegen. Indien het gedrag afwijkt van het normale gedrag, wordt een alarm gegenereerd. Op deze wijze wordt informatie over de waterkwaliteit verkregen lang voordat de watervlooiën doodgaan, wat leidt tot een gevoelige detectie van toxische stoffen

Na het alarm

Na het aanspreken van een alarm wordt de inname van Maaswater door WBB gedurende tenminste 24 uur gestaakt. In die tijd wordt het alarm nader geanalyseerd en wordt bekeken of het kan worden herleid tot een aanwijsbare oorzaak. Bij de algentoximeter is de alarmevaluatie relatief eenvoudig, omdat voor iedere meting een nieuwe hoeveelheid algen wordt gebruikt. Nadat met behulp van controlemetingen is vastgesteld of het alarm geldig is, kan de waterkwaliteit continu worden gevolgd. Indien de remming gedurende ten minste 24 uur lager is dan 80 procent van de limiet (dus lager dan 3,2 procent remming) wordt het alarm ingetrokken. Voor de algentoximeter kon het alarm, dat op 1 juli was gemeld, in de namiddag van 4 juli worden ingetrokken.

Bij de Daphnia-toximeter is de alarmevaluatie ingewikkelder en bewerklijker dan bij de algentoximeter. Tijdens een meetserie zijn steeds dezelfde watervlooiën in de meetcuvet aanwezig. Na het aanspreken van een alarm kunnen deze dieren niet langer worden gebruikt, enerzijds omdat de dynamische evaluatie van meetgegevens plaatsvindt aan gewijzigde waarden, de detectoren zullen dus niet meer worden aangesproken en de toxiciteitsindex zal afgebouwd worden. Anderzijds zijn de watervlooiën beïnvloed of mogelijk beschadigd geraakt door de verontreinigingen in het Maaswater die het alarm hebben gegenereerd. Om het alarm te kunnen intrekken, dienen nieuwe watervlooiën in de meetcuvet te worden geplaatst. Evaluatie van deze nieuwe meetserie kan vanwege het eerder geschetste probleem niet aan de hand van de toxiciteitsindex worden uitgevoerd, omdat naar verwachting de detectoren niet zullen worden aangesproken. De enige mogelijkheid die overblijft, is de vergelijking van de meetwaarden met de referentiewaarden voor normaal gedrag. Indien gedurende tenminste 24 uur de watervlooiën geen afwijkend gedrag vertonen, wordt het alarm ingetrokken.

in het onderzochte water. In de Daphnia-toximeter wordt het rivierwater door een meetcuvet, waarin zich de proefdieren bevinden, geleid. De bewegingen worden continu vastgelegd met behulp van een digitale videocamera. Aan de hand van de door *Daphnia* afgelegde weg wordt een aantal gedragsparameters gemeten en vastgelegd. Deze parameters zijn: de gemiddelde zwemsnelheid, de snelheidsklassenindex, de gemiddelde hoogte in de cuvet, de gemiddelde onderlinge afstand en



Afb. 5: Meetgegevens van de fysische en chemische sensoren voor temperatuur, zuurgraad, elektrisch geleidingsvermogen, zuurstofgehalte en troebeling van het Maaswater op het meetstation Keizersveer.

fractale dimensie (een maat voor de vorm van de afgelegde zwembaan). Daarnaast wordt een aantal andere parameters van de aanwezige *Daphnia* en het technisch functioneren van het systeem geregistreerd³⁾. Door het systeem kunnen plotselinge sprongen (Hinkley-detector) en geleidelijke veranderingen (gradiënt-detector) in de meetgegevens worden vastgesteld. Als een dergelijke detector wordt aangesproken, kent het systeem een vooraf vastgesteld aantal punten aan de toxiciteitsindex toe, die na enige tijd weer geleidelijk worden afgebouwd. Als een voldoende aantal detectoren is aangesproken in een bepaald tijdvenster, kan de toxiciteitsindex de vooraf ingestelde grens van tien overschrijden en wordt een alarm gemeld. Daarbij wordt er vanuit gegaan dat de kwaliteit van het Maaswater relatief langzaam verandert, omdat de sterkste beïnvloeding bovenstrooms plaatsvindt. Met de instellingen van de gebruikelijke gevoeligheid van het sys-

teem voor riviersystemen bestaat hierdoor de kans dat bij een geleidelijke verslechtering van de waterkwaliteit geen alarm wordt gegenereerd. Om de gevoeligheid van de *Daphnia*-toximeter te verhogen worden aanvullend de meetgegevens van een viertal gedragsparameters afzonderlijk beoordeeld ten opzichte van het 'normale' gedrag van *Daphnia*: de zwemsnelheid, de snelheidsklassenindex, de fractale dimensie en de onderlinge afstand tussen de watervlooiën. Om deze beoordeling te kunnen uitvoeren, is het 'normale' gedrag aan de hand van meetgegevens van datasets van het afgelopen jaar geëvalueerd. Hierbij bleek een aantal parameters afhankelijk te zijn van de grootte van de watervlooiën; zo zwemmen grote watervlooiën bij dezelfde omstandigheden sneller dan kleine dieren. Deze evaluatie heeft tot referentiewaarden (bereik tussen 10e en 90e percentiel) van het 'normale' gedrag voor de afzonderlijke grootteklassen geleid.

Conclusies

Op het meetstation Keizersveer heeft WBB een 'early warning'-systeem opgezet voor de bewaking van de waterkwaliteit van de Maas. De bewaking is toegespitst op de verbindingen die een bedreiging vormen voor de kwaliteit van het drinkwater in zuidwest-Nederland. Een biologische bewakingssysteem heeft reeds bewezen een waardevolle schakel te vormen in deze bewaking, vooral met het oog op het grote aantal verbindingen dat als gevolg van verontreinigingen aanwezig kan zijn. Voor dit brede spectrum van verbindingen is het technisch onmogelijk om een chemische monitoring op te zetten. Bij de continue biologische bewaking werd door de algen- en de *Daphnia*-toximeter een alarm gemeld als gevolg van een verontreiniging die in het Nederlandse deel van de Maas plaatsvond. Achteraf konden met behulp van chemische technieken slechts enkele componenten worden gekarakteriseerd. De beoordeling van de relevante onbekende stoffen, die bij chemische monitoring worden aangetroffen, is moeilijk. De effectgerichte biologische meetsystemen waarmee de acute toxiciteit wordt bepaald, kunnen hierbij een helpende hand bieden.

Kwaliteitsborging van een biologisch bewakingssysteem vormt een essentiële schakel bij de evaluatie van het alarm en is van belang voor de acceptatie van alarmmeldingen. Nederland loopt internationaal weliswaar voorop met de introductie van kwaliteitsborging van continue biologische meetsystemen, maar eerlijkheidshalve dient te worden aangegeven dat ook in Nederland de kwaliteitsborging nog in de kinderschoenen staat. Met de in Nederland lopende initiatieven zal de inzet en bruikbaarheid van de continue biologische meetsystemen verder kunnen toenemen.

LITERATUUR

- 1) Volz J., H. Ketelaars en A. Wagenvoort (2002). 50 jaar Maaswaterkwaliteit - een overzicht. H₂O nr. 3, pag. 21-26.
- 2) Wagenvoort A. en C. De Hoogh (2003). Biologische bewaking van het Maaswater bij Keizersveer. Implementatie van de algen- en *Daphnia*-toximeter. Rapport WBB.
- 3) Schwörer R. en M. Marten (2000). Mathematische Sprüngerkennung (Hinkley-Detektor und Steigungsoperatoren) im Einsatz bei der Erkennung von Messwert-Niveausprüngen bei kontinuierlichen Biotestgeräten. Deutsche Gesellschaft für Limnologie e. V. Tagungsbericht 2000, Kalteneier Söhne, pag. 692-696.