

Cover Page



Universiteit Leiden



The handle <http://hdl.handle.net/1887/22695> holds various files of this Leiden University dissertation

Author: Verschoor, Aletta Johanna

Title: The power of biotic ligand models : site-specific impact of metals on aquatic communities

Issue Date: 2013-12-04

Nederlandse samenvatting

Waterkwaliteitsnormen voor metalen worden in Nederland op vele plaatsen overschreden. Dat hoeft echter niet te betekenen dat het aquatisch ecosysteem wordt aangetast. Toxische effecten van metalen op het waterleven (bijvoorbeeld vissen, watervlooien en algen) zijn vaak hoger in testen met “standaard” water dan in natuurlijk oppervlaktewater. Dit impliceert dat normen, die zijn afgeleid op basis van testen met standaard water, mogelijk strenger zijn dan nodig is om het waterleven te beschermen. Onnodige en inefficiënte investeringen in emissiereducerende maatregelen kunnen het gevolg zijn.

Verschillen in toxiciteit worden veroorzaakt doordat de totale metaalconcentratie in het water is opgebouwd uit verschillende chemische verschijningsvormen, bijvoorbeeld vrije metaalionen, metaalcomplexen met carbonaat, sulfaat of hydroxide of metaal dat gebonden is aan zwevend stof of opgeloste organisch materiaal. Met name het vrije metaalion is verantwoordelijk voor het toxische effect. Natuurlijke wateren bevatten bestanddelen die de vrije ionactiviteit van metalen reduceren. Bovendien treden effecten van stoffen op organismen alleen op als ook daadwerkelijk blootstelling aan die stof plaatsvindt (biobeschikbaarheid). Binding aan biologische membranen (ook wel biotische liganden genoemd) is een eerste stap in het contact tussen organisme en het vrije metaalion. De kieuwen van een vis zijn bijvoorbeeld biotisch liganden waaraan de metaal binding direct gemeten kan worden. Na binding aan het biotisch ligand kan verdere opname in het organisme plaatsvinden, met mogelijk toxische effecten tot gevolg. De binding van het vrije metaalion kan afgeremd worden door macro-ionen die qua grootte en lading lijken op het metaal. Vooral natrium, calcium en magnesium zijn door competitie om dezelfde bindingsplaatsen op het biotisch ligand in staat de opname van vrije metaalionen in organismen te verminderen.

De samenstelling van het oppervlaktewater beïnvloedt aldus de biologische beschikbaarheid van metalen. Dit biedt kansen voor een verbetering van

waterkwaliteitsnormen en risicobeoordeling van metalen. De Europese Kaderrichtlijn Water geeft aan dat bij het beoordelen van de waterkwaliteit rekening mag worden gehouden met verschillen tussen watertypen veroorzaakt door biologische beschikbaarheid. Hoé dat moet gebeuren is niet nader gespecificeerd.

De afgelopen 10 jaar zijn grote wetenschappelijke vorderingen gemaakt in het ontwikkelen van biotische ligandmodellen (BLM's), die voor dat doel gebruikt kunnen worden. De BLM's berekenen bij welke mate van metaalbinding aan het biotisch ligand effecten optreden. Het meest ontwikkeld en getest zijn BLM's van koper, nikkel en zink, die effectconcentraties voorspellen voor acute en chronische blootstelling van vissen, kreeftachtigen, algen en planten.

De beleidsmatige implementatie en routinematige toepassing van BLM's wordt echter belemmerd door een aantal factoren. BLM's zijn complexe modellen, die chemische speciatieberekeningen en normalisatie van grote aantallen toxische data vereisen. Daarnaast moeten er tot wel 10 fysisch-chemische waterkarakteristieken gemeten worden om een watertypespecifieke norm via een BLM te kunnen berekenen. Tenslotte bestaat er nog terughoudendheid omdat de BLM's op basis van laboratoriumtests zijn ontwikkeld en de validiteit van de modellen voor schatting van effecten in een natuurlijke veldsituatie nog grotendeels onbekend is. De doelstellingen van dit promotieonderzoek waren daarom om 1) de voorspellende waarde van BLM's in veldsituaties te verifiëren en te optimaliseren en 2) de beleidsmatige implementatie van BLM's te faciliteren.

Om de voorspellende waarde van BLM's in veldsituaties te verifiëren en te optimaliseren (doel 1) zijn twaalf riviertjes en beken in het stroomgebied van De Dommel geselecteerd. Het gebied herbergt een aantal beken met relatief hoge concentraties van diverse metalen, veroorzaakt door industriële lozingen en uitspoeling van meststoffen en historische bodemverontreiniging.

In deze wateren is het effect onderzocht van metalen op overleving, groei en voortplanting van de watervlo *Daphnia magna* (Hoofdstuk 2 en 3) en op de groei van de zoetwaterkreeft *Gammarus roeseli* (Hoofdstuk 3). De organismen werden in het laboratorium gekweekt en als juvenielen in kooien uitgezet in de beken. De kooien zijn omgeven met gaas en daardoor waterdoorlatend; de organismen konden niet ontsnappen en waren tevens beschermd tegen predatoren. Gelijktijdig werden de watervlooien getest in het laboratorium, in

water uit dezelfde beken. De proeven duurden 3 weken, gedurende die tijd groeiden de jonge watervlooien uit tot volwassen exemplaren die zich in meer of mindere mate voortplantten. Overleving en reproductie werden aan het einde van de veldproef bepaald en in het laboratorium ook tussentijds 2x per week. Aan het eind van de proef werden ook het gewicht van de organismen en de hoeveelheid opgenomen metalen (accumulatie) bepaald. In het water zijn de chemische eigenschappen gemeten, die nodig zijn om te biobeschikbaarheid te berekenen: metaalconcentraties, zuurgraad, opgeloste organische stof, natrium, calcium, magnesium, chloride, sulfaat en carbonaat. Bovendien zijn temperatuur, zuurstofgehalte en zoutgehalte (uitgedrukt als elektrisch geleidend vermogen) bepaald, omdat die parameters inzicht geven in de randvoorwaarden voor het optimaal functioneren van de organismen.

In hoofdstuk 2 wordt beschreven dat de bioaccumulatie van cadmium, kobalt en mangaan in *Daphnia magna* en *Gammarus roeseli* in diverse natuurlijke oppervlaktewateren verklaard kan worden door verschillen in de berekende metaalbinding aan het biotisch ligand (f_{BL}). Hogere cadmium, kobalt en mangaan concentraties in het water en in het lichaam hadden een negatief effect op de groei (lichaamsgewicht). Organismen kunnen de interne concentraties van essentiële stoffen reguleren. Dat wordt bevestigd door de veldproeven, waarin concentraties calcium, natrium, kalium, ijzer, koper, seleen en zink constant bleven, ondanks grote concentratieverschillen in het water.

In hoofdstuk 3 worden grote verschillen beschreven in populatiegroei van *Daphnia magna* in de verschillende beken en tussen laboratorium en veldtesten met hetzelfde water. In de veldstudie kon dat verklaard worden door verhoogde bioaccumulatie van cadmium en zink én hogere berekende metaalbinding aan het biotisch ligand. De effecten traden op bij 30x lagere concentraties dan op basis van de BLM's werd berekend.

In de laboratoriumtest kon de watervlo beter overleven, sneller groeien en zich vaker voortplanten dan in de veldtest, omdat extra voedsel werd toegediend én de temperatuur op een constant optimum werd gehouden. Verschillen in populatiegroei tussen de watermonsters werden verklaard door verschillen in kobalt en nikkel bioaccumulatie en door verschillen in de berekende metaalbinding aan het biotisch ligand. Effecten traden op bij 20x lagere concentratie dan basis van de BLM's werd berekend.

Afwijkingen in de effectvoorspelling door BLM's (zoals de bovengenoemde factoren 20 en 30) kunnen veroorzaakt worden door een andere experimentele opzet, gebruik van andere organismen en gebruik van andere watertypen. Een manier om de BLM's te verbeteren voor voorspellingen in het veld is het aanpassen van de intrinsieke gevoeligheid van het organisme (=calibreren). In de literatuur zijn calibratiefactoren gerapporteerd tot een factor 100 lager. Uit de onderhavige veld- en laboratoriumstudie zijn calibratiefactoren af te leiden die binnen de range van gerapporteerde waarden liggen, namelijk 0.05 (20x lager) voor kobalt en nikkel en 0.033 (30x lager) voor cadmium en zink.

Om de beleidsmatige implementatie van BLM's te faciliteren (doel 2), is onderzocht óf de BLM's van koper, nikkel en zink vereenvoudigd kunnen worden, en of de benodigde monitoring inspanning kan worden beperkt, terwijl een acceptabele betrouwbaarheid van de berekende normen wordt behouden. De normen voor waterkwaliteit worden in Nederland afgeleid door de gevoeligheid van een groot aantal soorten organismen te onderzoeken. De gevoeligheid van elke individuele soort wordt uitgedrukt in een "no-observed effect concentration" (NOEC). Daarbij wordt rekening gehouden met verschillende toxicologische eindpunten zoals groei, reproductie, overleving en beweeglijkheid. Idealiter wordt de norm, die het hele ecosysteem moet beschermen, gelijk gesteld aan de concentratie waarbij maximaal 5% van de soorten een effect ondervindt (=HC5). Voor het afleiden van een watertype-specifieke norm moet de BLM worden toegepast op elke afzonderlijke NOEC uit de gevoeligheidsverdeling. Dit vereist inzicht in de oorspronkelijke testgegevens; metaalconcentraties en specifieke waterchemie. Voor koper, nikkel en zink, die beschouwd worden als probleemstoffen in het oppervlaktewater, zijn alle testresultaten (circa 130 per metaal) aan BLM-berekeningen onderworpen. Voor elke test is de mate van metaalbinding aan het biotisch ligand berekend, waarbij géén effect optreedt ($=f_{BL,NOEC}$). Dit is de maat is voor de intrinsieke gevoeligheid van een organisme voor een metaal.

Vervolgens berekent de BLM bij welke opgeloste metaalconcentratie in het betreffende oppervlaktewater de metaalbinding aan het biotisch ligand gelijk is aan $f_{BL,NOEC}$ uit de toxiciteitstest. Op deze manier zijn in hoofdstuk 4 watertype-specifieke normen afgeleid voor koper, nikkel en zink in 372 Nederlandse oppervlaktewateren, waarvoor in 2009 de benodigde watereigenschappen gemeten waren. De metaalbinding aan het biotisch ligand hangt af van de

fysisch-chemische samenstelling van het watermonster. Zo kan het zijn dat de hoogte van de norm een factor 100 verschilt tussen wateren, terwijl het beschermingsniveau hetzelfde is. Door rekening te houden met de invloed van biobeschikbaarheid van metalen, daalde het aantal locaties met een jaargemiddelde normoverschrijding van 85 naar 0% voor Cu en van 61 naar 20% voor Zn. Voor Ni werd een stijging van de normoverschrijding berekend, van 8% als de generiek Europese norm van 20 µg/L wordt gehanteerd naar 17% als de watertypespecifieke norm wordt gebruikt.

De variaties van de watertypespecifieke normen voor koper, nikkel en zink in de tijd zijn onderzocht voor 76 locaties in het stroomgebied van de Dommel, waarvoor maandelijks metingen van de waterchemie over een periode van 3½ jaar (2007-2010) werden gebruikt (Hoofdstuk 4). Zowel metaalconcentraties als normen zijn onderhevig zijn aan seizoensfluctuaties. De resulterende risico's zijn het hoogst in februari en het laagst in september. Risico's in mei komen het meest overeen met de jaargemiddelde risico's.

In hoofdstuk 5 is onderzocht of de BLM's van koper, nikkel en zink voor algen, kreeftachtigen en vissen (dat zijn 9 BLM's) vereenvoudigd kunnen worden tot één lineaire vergelijking per metaal, die slechts een beperkte set aan meetgegevens nodig heeft. De normen (HC5-waarden) die in hoofdstuk 4 zijn berekend voor 372 locaties in Nederland, zijn gerelateerd aan opgeloste organische stof, zuurgraad, natrium, calcium, magnesium, chloride, sulfaat en carbonaat in dezelfde watermonsters. In eerste instantie is gekeken hoe goed een lineaire vergelijking met ál deze parameters de HC5 kan voorspellen. De kans dat er met de BLM een HC5 wordt berekend die buiten het betrouwbaarheidsinterval van de lineaire vergelijking valt was erg klein (<0.05). Door stapsgewijze multiple lineaire regressie werden de minst belangrijke parameters één voor één verwijderd, terwijl steeds de betrouwbaarheid van het vereenvoudigde model werd gecontroleerd. Hoe minder parameters over blijven hoe groter de onzekerheid in de voorspelde HC5. Onze resultaten tonen aan dat het opgeloste organische stofgehalte de belangrijkste schatter is voor de HC5, met een betrouwbaarheid van 72-75%. Als een tweede parameter wordt toegevoegd neemt de betrouwbaarheid toe tot 87-94%. Als vervolgens ook de zuurgraad en calcium, magnesium of natrium bekend zijn kan 88-97% van de variatie in de HC5 worden voorspeld.

De gevoeligheid van organismen die in natuurlijke wateren worden getest, is hoger dan door de BLM's werd voorspeld (Hoofdstuk 3). Het toepassen van een lab-naar-veld calibratiefactor kan dit verschil corrigeren. De calibratiefactoren in dit proefschrift zijn van toepassing op wateren die verontreinigd zijn met een mix van relatief hoge metaalconcentraties, kenmerkend voor emissies uit de zink-industrie. Het is een grote uitdaging voor het milieuonderzoek om risicobeoordelingsmethodieken te ontwikkelen die recht doen aan de complexe chemisch-biologische interacties in de natuur én die praktisch toepasbaar zijn in een beleidsmatige context. De in dit proefschrift afgeleide vereenvoudigde functies en aanwijzingen voor gerichte monitoring bieden de mogelijkheid om biobeschikbaarheid beleidsmatig te implementeren en routinematig te gaan toepassen, met inzicht in de onzekerheden die daar bij horen. De functies vormden de basis voor het recent ontwikkelde software pakket PNEC-Pro, waarmee waterbeheerder op een eenvoudige manier, met slechts 1, 2 of 3 monitoringparameters, watertypespecifieke normen kunnen berekenen (www.pnec-pro.com). Voor het inschatten van actuele risico's, ten gevolge van gelijktijdige blootstelling aan meerdere stressoren, blijft aanvullend onderzoek ter plekke nodig. BLM's of PNEC-pro kunnen helpen in het prioriteren van de locaties waarvoor aanvullend onderzoek het meest noodzakelijk en maatregelen het meest effectief zijn.