

ECOTOXICOLOGISCHE ASPECTEN BIJ DE NABEHANDE- LING VAN RWZI-EFFLUENTEN MET BEHULP VAN BIOMASSA KWEK



RAPPORT

2003
12

**Ecotoxicologische aspecten bij
de nabehandeling van rwzi-effluenten
met behulp van biomassa kweek**

Arthur van Schendelstraat 816

Postbus 8090, 3503 RB Utrecht

Telefoon: 030 - 232 11 99

Fax: 030 - 232 17 66

E-mail: stowa@stowa.nl

<http://www.stowa.nl>

2003 12

Publicaties en het publicatie-overzicht
van de STOWA kunt u uitsluitend bestellen bij:

Hageman Fulfilment

Postbus 1110

3300 CC Zwijndrecht

Telefoon: 078 - 629 33 32

fax: 078 - 610 42 87

E-mail: hff@wxs.nl

o.v.v. ISBN- of bestelnummer
en een duidelijk afleveradres.

Colofon

Utrecht, 2003

Uitgave:
STOWA, Utrecht

Tekst:
E.M. Foekema
V.G. Blankendaal
P.C. Goedhart
G. Hoornsman

Druk:
Kruyt Grafisch Advies Bureau

STOWA rapportnummer 2003-12

ISBN nummer 90.5773.217.3

Ten geleide

Zuiveringsmoerassen (helofytenfilters) worden reeds bij verschillende rwzi's toegepast om het traditioneel gezuiverde effluent na te behandelen, waarbij nutriënten uit het effluent worden omgezet in plantaardige biomassa. Tegelijkertijd bevordert de fysieke aanwezigheid van de planten in het moeras het uitzakken van in het effluent aanwezig zwevend materiaal.

Momenteel wordt door het Hoogheemraadschap Uitwaterende Sluizen in samenwerking met TNO-MEP een andere, additionele invulling van zo'n nazuivering onderzocht. Hierbij worden watervlooien ingezet om het zwevende organisch materiaal dat zich nog in het effluent bevindt, weg te filteren en als voedsel aan te wenden. De biomassa aan watervlooien die hierbij wordt geproduceerd vormt een voedselbron voor planktivore vis.

Het concept combineert een aantal voordelen: terwijl het zwevend materiaal uit het effluent wordt omgezet in (nuttige) dierlijke biomassa, verbetert de kwaliteit van het effluent. Door een helofytenfilter te combineren met de inzet van watervlooien moet het mogelijk zijn om effluent van 'oppervlaktewater kwaliteit' te verkrijgen, waardoor de watercirkel zonder haperen gesloten is. Onduidelijk is of de kwaliteit van het effluent van andere zuiveringsinstallaties een dergelijke aanpak ook toelaat. Zo zou de kwaliteit van een effluent zo slecht kunnen zijn dat de ontwikkeling van algen of watervlooien ernstig wordt belemmerd, waardoor de kweek van deze organismen gewoonweg niet mogelijk is. Indien het wel mogelijk is om organismen te kweken op het effluent zou er een risico kunnen bestaan voor doorvergiftiging van stoffen uit het effluent op een hoger niveau in de voedselketen of van stoffen met een specifiek toxische werking (bijv. hormoonontregeling).

Het onderzoek werd uitgevoerd door E.M. Foekema, V.G. Blankendaal en P.C. Goedhart (TNO-MEP). Het onderzoek is begeleid door:

T. H.L. Claassen	: Wetterskip Fryslân
R. Kampf	: Hoogheemraamdschap Hollands Noorderkwartier
W. Wiegman	: Waterschap Groot Salland
C. Baltus / E.Roex	: RIZA
A.J. Palsma	: STOWA

Met dit onderzoek hopen wij de ontwikkelingen rond nazuivering van effluent een verdere stimulans te geven.

Utrecht, Juni 2003

De directeur van de STOWA

Ir. J.M.J. Leenen

Samenvatting

Door middel van een literatuurstudie en biologische testen met effluenten van negen rwzi's zijn de ecotoxicologische aspecten onderzocht die van belang kunnen zijn bij de nabehandeling van rwzi-effluenten met behulp van biomassakweek.

Ecotoxicologische aspecten kunnen op verschillende wijze een rol spelen bij kweek van biomassa op rwzi-effluenten. Enerzijds kan een effluent zo toxisch zijn, dat de ontwikkeling van biomassa hierdoor wordt belemmerd of zelfs onmogelijk is. Anderzijds kunnen risico's ontstaan indien de gekweekte biomassa in de natuurlijke voedselketen wordt opgenomen. Hierbij spelen respectievelijk toxiciteit en de aanwezigheid van bioaccumulerende stoffen een rol. Ook zouden milieurisico's kunnen ontstaan door de aanwezigheid van stoffen die het hormoonstelsel ontregelen.

Voor het experimentele onderzoek werden negen rwzi's geselecteerd. Op deze locaties is reeds een moerassysteem aanwezig (een helofyten filter, waar plantaardige biomassa gekweekt wordt op effluent) of bestaan plannen om een dergelijk systeem aan te leggen. De negende rwzi werd gekozen omdat deze tegelijkertijd werd bemonsterd in het kader van de Functionele Werkgroep Verontreinigingen Oppervlaktewater (FWVO).

De effluenten werden bemonsterd vóór de passage van een eventueel aanwezig helofyten filter. In het laboratorium werden de effluenten verdeeld over 50 liter vaten waarna respectievelijk algen, watervlooien en een combinatie van beide werden toegevoegd. Gedurende 8-10 dagen werd de ontwikkeling van de watervlooien en algenpopulaties in de vaten gevolgd.

In vijf van deze effluenten werd de concentratie zware metalen en potentieel bioaccumulerende stoffen bepaald.

Met betrekking tot de toxiciteit van de onderzochte effluenten kwamen de test resultaten overeen met de gegevens uit de literatuur. Watervlooien bleken in alle effluenten goed te gedijen, terwijl de algen in de meeste effluenten een geremde ontwikkeling te zien gaven. In verschillende effluenten kwamen de algen in het geheel niet tot ontwikkeling.

Eén rwzi werd tweemaal bemonsterd met een tussenliggende periode van bijna een jaar. In de eerste test was de algenontwikkeling totaal geremd, terwijl in de tweede test de populatie zich normaal ontwikkelde. Dit onderstreept dat de kwaliteit van de effluenten niet constant is, en dat bij eenmalige monsternamen slechts van een momentopname sprake is. Deze fluctuerende kwaliteit kan ook een stabiele ontwikkeling van een biomassa kweekstelsel beïnvloeden.

Het was niet mogelijk om de waargenomen effecten te verklaren aan de hand van de resultaten van de chemische analyses. Er werden tijdens het experimentele onderzoek geen aanwijzingen gevonden dat gevonden effecten te koppelen waren aan de in de literatuurstudie als potentieel problematisch aangemerkte stoffen zink, koper en hydroxypropionitril.

Alle onderzochte effluenten bezaten enige potentie tot bioaccumulatie, zonder grote verschillen tussen de verschillende rwzi's. Omdat bij de gebruikte testmethode ook niet persistente stoffen worden meegewogen, kan dit worden beschouwd als een overschatting van het werkelijke risico voor bioaccumulatie van stoffen in organismen.

Concluderend kan gesteld worden dat er zeker mogelijkheden zijn voor de nabehandeling van rwzi-effluenten door biomassakweek. De gunstige werking van helofytenfilters waarin (hoewel niet als doel op zich) plantaardige biomassa gekweekt wordt, heeft zijn nut inmiddels bewezen en ook het gebruik van watervlooien biedt goede mogelijkheden. Het kweken van algen heeft duidelijk minder slagingskansen.

Tenslotte verdient de mogelijke aanwezigheid van stoffen met een endocriene (hormoon-ontregelende) werking en het voorkomen van pathogene micro-organismen in rwzi-effluenten aandacht bij het ontwerpen van systemen waarbij effluenten en biomassaproductie voor natuurontwikkeling worden toegepast.

De STOWA in het kort

De Stichting Toegepast Onderzoek Waterbeheer, kortweg STOWA, is het onderzoeksplatform van Nederlandse waterbeheerders. Deelnemers zijn alle beheerders van grondwater en oppervlaktewater in landelijk en stedelijk gebied, beheerders van installaties voor de zuivering van huishoudelijk afvalwater en beheerders van waterkeringen. In 2002 waren dat alle waterschappen, hoogheemraadschappen en zuiveringsschappen, de provincies en het Rijk (i.c. het Rijksinstituut voor Zoetwaterbeheer en de Dienst Weg- en Waterbouw).

De waterbeheerders gebruiken de STOWA voor het realiseren van toegepast technisch, natuurwetenschappelijk, bestuurlijk juridisch en sociaal-wetenschappelijk onderzoek dat voor hen van gemeenschappelijk belang is. Onderzoeksprogramma's komen tot stand op basis van behoefteinventarisaties bij de deelnemers. Onderzoekssuggesties van derden, zoals kennisinstututen en adviesbureaus, zijn van harte welkom. Deze suggesties toetst de STOWA aan de behoeften van de deelnemers.

De STOWA verricht zelf geen onderzoek, maar laat dit uitvoeren door gespecialiseerde instanties. De onderzoeken worden begeleid door begeleidingscommissies. Deze zijn samengesteld uit medewerkers van de deelnemers, zonodig aangevuld met andere deskundigen.

Het geld voor onderzoek, ontwikkeling, informatie en diensten brengen de deelnemers samen bijeen. Momenteel bedraagt het jaarlijkse budget zo'n vijf miljoen euro.

U kunt de STOWA bereiken op telefoonnummer: +31 (0)30-2321199.

Ons adres luidt: STOWA, Postbus 8090, 3503 RB Utrecht.

Email: stowa@stowa.nl.

Website: www.stowa.nl.

Inhoud

Colofon
Ten geleide
Samenvatting
STOWA in het kort

1	Inleiding	3
2	Literatuuronderzoek	5
2.1	Doel en werkwijze	5
	2.1.1 <i>Acute toxiciteit</i>	5
	2.1.2 <i>Chronische toxiciteit</i>	6
	2.1.3 <i>Synopsis</i>	7
2.2	Risicoanalyse van effluent	7
	2.2.1 <i>Fysisch chemische randvoorwaarden</i>	7
	2.2.2 <i>Metalen</i>	8
	2.2.3 <i>Organische microverontreinigingen</i>	9
	2.2.4 <i>Bestrijdingsmiddelen</i>	10
	2.2.5 <i>Oppervlakte-actieve-stoffen</i>	11
	2.2.6 <i>Synopsis</i>	13
2.3	Risico van bioaccumulatie	14
2.4	Risico van endocrine effecten.....	15
2.5	Micro-organismen.....	17
3	Experimenteel onderzoek	19
3.1	Bemonsterde rwzi's	19
3.2	Methoden	20
	3.2.1 <i>Plankton ecoassay</i>	20
	3.2.2 <i>Chemische analyses</i>	22
3.3	Resultaten	22
	3.3.1 <i>Eerste testserie</i>	22
	3.3.2 <i>Tweede testserie</i>	25
	3.3.3 <i>Derde testserie</i>	28
	3.3.4 <i>Chemische analyses</i>	31
3.4	Discussie experimentele resultaten.....	32
4	Discussie en conclusies	35
4.1	Is effluentkwaliteit een beperkende factor voor nabehandeling door biomassakweek	35
4.2	Aanbevelingen voor de “waterharmonica”	35
4.3	Implicaties voor oppervlaktewater.....	36
4.4	Onzekerheden en vervolgonderzoek.....	36
5	Referenties	37
6	Verantwoording	41
	Bijlage	43

1 Inleiding

Het effluent van rioolwaterzuiveringsinstallaties heeft doorgaans nog niet de kwaliteit van het ontvangende oppervlaktewater. Het onderscheidt zich onder andere door een relatief hoog nutriënten en organisch stofgehalte, en een hoog zuurstofverbruik als gevolg van de hoge bacteriologische activiteit. Om effluënten na te behandelen worden bij verschillende rwzi's moeras-systemen (helofytenfilters) toegepast (Schreijer & Kampf, 2000).

Sinds 1998 onderzoekt het Hoogheemraadschap Hollands Noorderkwartier (voorheen Hoogheemraadschap Uitwaterende Sluizen) in samenwerking met TNO-MEP een andere, additionele invulling van nazuivering. Hierbij worden watervlooiën ingezet om het zwevende organisch materiaal dat zich nog in het effluent bevindt, weg te filteren en als voedsel aan te wenden (Groot, 1998; Kampf *et al.*, 1998). De biomassa aan watervlooiën die hierbij wordt geproduceerd, vormt een voedselbron voor planktivore vis (Jak *et al.*, 2000). Meer informatie over dit 'kwekelbaarsjes' project is beschreven in een box aan het eind van dit hoofdstuk.

Het kwekelbaarsjesconcept combineert een aantal voordelen: terwijl het zwevend materiaal uit het effluent wordt omgezet in (nuttige) dierlijke biomassa, verbetert de kwaliteit van het effluent. Door een helofytenfilter te combineren met de inzet van watervlooiën moet het mogelijk zijn om effluent van 'oppervlaktewaterkwaliteit' te verkrijgen.

Uit onderzoek op Texel blijkt dat biomassakweek op het effluent van rwzi Eversteekoog in principe mogelijk is (Foekema & Kampf, 2002). Het is echter de vraag of dit algemeen geldt, of dat er verschillen bestaan tussen rwzi's en in de tijd. In bepaalde gevallen zou de kwaliteit van een effluent zo slecht kunnen zijn dat de ontwikkeling van algen of watervlooiën ernstig wordt belemmerd, waardoor de kweek van deze organismen niet mogelijk is. Indien het wel mogelijk is om organismen te kweken op het effluent zou er een risico kunnen bestaan voor doorvergiftiging van stoffen uit het effluent op een hoger niveau in de voedselketen of van stoffen met een specifiek toxische werking (bijv. hormoonontregeling).

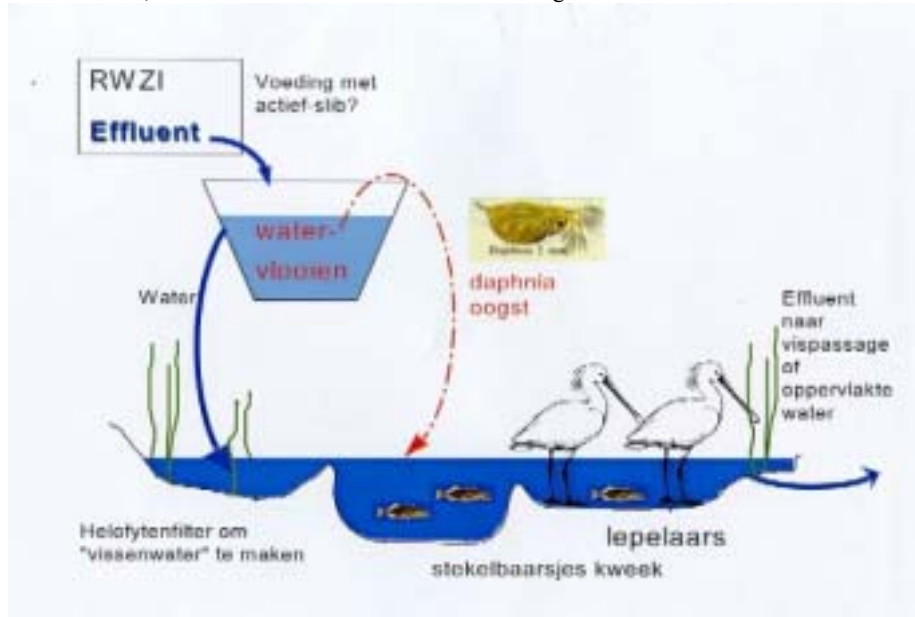
Om meer inzicht te krijgen in deze ecotoxicologische aspecten van biomassakweek op rwzi-effluënten is in opdracht van de STOWA het onderzoek uitgevoerd dat in dit rapport wordt beschreven. De nadruk van de studie lag op de mogelijke risico's van de kwaliteit van rwzi-effluent voor de kweek van algen en watervlooiën. Deze groepen organismen zijn van belang voor biomassakweek, omdat zij direct gekweekt kunnen worden op een (geschikt) effluent. Het onderzoek bestond uit een verkennende literatuurstudie en een experimenteel programma. Voor de literatuurstudie is vooral gebruik gemaakt van de bestaande literatuursystemen van TNO en RIZA. Hierbij is een overzicht gemaakt van de beschikbare informatie over toxiciteitsstudies met Nederlandse rwzi-effluënten en is een risicoanalyse van rwzi-effluent gemaakt op basis van het voorkomen van individuele stoffen in rwzi-effluënten. De resultaten zijn beschreven in hoofdstuk 2.

In hoofdstuk 3 wordt het experimentele onderzoek beschreven waarbij gebruik is gemaakt van een 10-daagse test om de ontwikkeling van algen en watervlooiën op puur effluent van negen verschillende rwzi's te bepalen.

De bevindingen van de literatuurstudie en de experimenten zijn in hoofdstuk 4 gebruikt om een aantal conclusies te formuleren over de mogelijkheden, beperkingen en onzekerheden bij de nabehandeling van rwzi-effluënten door de inzet van algen en watervlooiën. Verder worden enkele opmerkingen gewijd aan de mogelijke implicaties voor oppervlaktewater dat (niet nabehandeld) rwzi-effluent ontvangt, en worden aanbevelingen voor vervolg onderzoek gedaan. Als bijlage van het rapport is een verklarende woorden-/afkortingenlijst opgenomen.

Het Kwekelbaarsjes project

Op Texel onderzoekt het Hoogheemraadschap Hollands Noorderkwartier de mogelijkheden om het effluent van de rwzi De Cocksdoorp nuttig in te zetten voor natuurontwikkeling. Uitgangspunt hierbij is de wetenschap dat het mogelijk is om watervlooiën op effluent te kweken waardoor de effluentkwaliteit verbetert. De gekweekte watervlooiën kunnen vervolgens worden gebruikt om de stand van stekelbaarsjes te stimuleren. Deze stekelbaarsjes vormen de belangrijkste voedselbron voor de op het eiland broedende lepelaars. Om de intrek van stekelbaarsjes vanuit zee mogelijk te maken is een speciale vishevel aangelegd die de visjes over de dijk helpt. Voor het functioneren van deze vishevel is echter een constante lokstroom zoetwater nodig, en juist zoetwater is 's zomers op het eiland schaars, waardoor de vishevel vaak buiten werking is.



Het kwekelbaarsjes project beoogt een oplossing van al deze punten.

Het in de waterzuivering (rwzi) gezuiverde afvalwater (effluent) wordt eerst naar een vijver gepompt. In deze vijver worden watervlooiën gekweekt. De productie aan watervlooiën wordt door gericht oogsten en eventueel bijvoeren met actief-slib deeltjes uit de rwzi zo groot mogelijk gemaakt. Het water passeert vervolgens een helofytenfilter om het water geschikt te maken voor vissen. De watervlooiën uit de watervlooienvijver worden daarna naar de stekelbaarsjeskweekvijver gebracht. Daar kunnen de met de vispassage binnengebrachte stekelbaarsjes opgroeien. Deze vijver is te diep voor lepelaars om te foerageren. Vervolgens stroomt het water door een ondieper moerassysteem waar lepelaars zich te goed kunnen doen aan (een deel van de) stekelbaarsjes. Het water uit het moerassysteem kan vervolgens gebruikt worden als lokstroom voor de vispassage of is een welkome aanvulling van het zoete oppervlaktewater op het eiland.

Ecotoxicologische aspecten zijn op een aantal punten in dit proces van groot belang. In eerste instantie mag de kwaliteit van het effluent de ontwikkeling van watervlooiën niet belemmeren. Ook moet gegarandeerd zijn dat de geproduceerde watervlooiën een goede voedselbron vormen, zonder schadelijke stoffen die zich kunnen ophopen (biomagnificatie) in de stekelbaarsjes en de lepelaars.

Tenslotte is van belang dat de naar het systeem gelokte lepelaars hier geen bovenmatig risico lopen door bijvoorbeeld de blootstelling aan stoffen met een hormoonverstorende werking.

2 Literatuuronderzoek

2.1 Doel en werkwijze

Het doel van het literatuuronderzoek was het creëren van een overzicht van de aanwezige informatie over de kwaliteit van Nederlandse rwzi-effluenten en het op basis hiervan inschatten van de mogelijkheden en risico's van de kweek van biomassa op deze effluenten.

Het onderzoek was daarom speciaal gericht op de Nederlandse situatie. In een aantal gevallen zijn tevens buitenlandse gegevens gebruikt om mogelijke risico's beter te kunnen aangeven. Omdat bij de beoogde vorm van biomassakweek vooral gedacht wordt aan de kweek van algen en watervlooien is de studie specifiek gericht geweest op deze groepen.

Als gegevensbron is vooral gebruik gemaakt van Nederlandse en buitenlandse (overzichts)literatuur en onderzoeksrapporten, waarvan het grootste deel werd verkregen uit de bestaande literatuurbestanden van het RIZA en TNO.

De literatuurstudie had een verkennend karakter zonder de intentie uitputtend te zijn.

2.1.1 Acute toxiciteit

De toegepaste acute toxiciteitstesten worden vaak uitgevoerd volgens bepaalde standaardprotocollen. Voor de onderhavige studie is gekeken naar effecten op algen en watervlooien.

In Nederland wordt voor dit soort testen standaard gebruik gemaakt van de watervlo *Daphnia magna* (48 uren test) en de alg *Raphidocelis subcapitata* (72 uren test). In buitenlandse testen worden ook andere soorten ingezet (Tabel 1).

Tabel 1 Acute toxiciteitgegevens van rwzi-effluenten bepaald in laboratoriumtesten in Nederland en buitenland. De toxiciteit is uitgedrukt als volume percentage van het onderzochte effluent. Als testorganismen zijn gebruikt de alg *Raphidocelis subcapitata* en de watervlooien *Daphnia magna* en *Ceriodaphnia dubia*.

Soort	# rwzi's	Resultaat in volume %	Referentie
Nederland			
<i>R. subcapitata</i>	14	EC50 = 26- >100 % NOEC = 12.5- 97.7 %	De Graaf <i>et al.</i> , 2000
<i>R. subcapitata</i>	5	EC50 A= 50 – 97.7 % EC50 μ = 58.8- >97.7 %	Baltus, 2001
<i>D. magna</i>	13	EC50 = > 100 %	De Graaf <i>et al.</i> , 2000; Berbee <i>et al.</i> , 2000
<i>D. magna</i>	5	EC50 = > 100 %	Baltus, 2001
Buitenland			
<i>R. subcapitata</i>	152	EC50 = 44 % (max. 0,05 %)	Diehl <i>et al.</i> , 1998; Hagendorf <i>et al.</i> , 1997
<i>R. subcapitata</i>	35	EC50 = 100 %	Börnert <i>et al.</i> , 1995
<i>D. magna</i>	152	EC50 = 48 % (max. 0,4 %)	Diehl <i>et al.</i> , 1998; Hagendorf <i>et al.</i> , 1997
<i>D. magna</i>	35	EC50 = 50 %	Börnert <i>et al.</i> , 1995
<i>D. magna</i>	121	LC50 = ca. 50 %	Fisher <i>et al.</i> , 1998
<i>D. magna</i>	31	LC50 = 3.2->100 %	Schroder <i>et al.</i> , 1991
<i>D. magna</i>	1	EC50 = >100 %	Zogorc-Koncan & Cotman, 1996
<i>C. dubia</i>	1	LC50 = 4.97 – 7.08%	Keller, 1993
<i>C. dubia</i>	13	LC50 = 25- >100%	Amato <i>et al.</i> , 1992

Zowel in het buitenland als in Nederland is acute toxiciteit van rwzi-effluenten aangetroffen. In de Nederlandse effluenten treden acute toxische effecten vooral op bij de algentest. Bij de testen met *Daphnia*'s wordt in deze Nederlandse experimenten doorgaans geen acute toxiciteit gevonden. Buitenlandse effluenten blijken vooral in bacterietesten toxische effecten te veroorzaken (Tonkes *et al.*, 2000). De resultaten van bacterietesten zijn in deze studie niet meegenomen.

Momenteel wordt door het RIZA onderzocht of de verschillen tussen binnen- en buitenlandse testresultaten het gevolg kunnen zijn van de gebruikte testmethodieken (pers. comm. C. Baltus, RIZA).

Het Waterschap Groot Salland heeft met de Toxbox een eigen toxiciteitstest ontwikkeld voor het beoordelen van toxiciteit van effluenten van rwzi's. Op locatie worden watervlooiën gedurende een week in een doorstroomsysteem blootgesteld aan het te testen effluent. Als effectparameter wordt de sterfte in de Toxbox vergeleken met een 'standaard' uitvalpercentage van 10%. Tijdens de inzet van de Toxbox bij negen rwzi's werden bij twee rwzi's, in Raalte en Tollebeek, effecten gevonden. De effecten in Raalte werden bevestigd tijdens twee extra metingen en werden waarschijnlijk veroorzaakt door een hoge concentratie van het insecticide diazinon.

De oorzaak van het eenmalig waargenomen effect in Tollebeek kon niet worden achterhaald.

De effluenten van de overige zeven geteste rwzi's veroorzaakten geen toxische respons.

De Toxbox geeft geen maat voor de ernst van de toxische effecten (Wiegman, 2001).

Tijdens landelijk onderzoek naar de toepassing van acute toxiciteitstesten bij effluentbeoordeling is de toxiciteit van 56 effluenten getest met bacteriën, algen, watervlooiën en vissen (de Graaf *et al.*, 2000). Hieronder bevonden zich elf rwzi's. Hiervan werden er zes gekwalificeerd als 'niet acuut toxisch' (EC₅₀ waarden van > 100%), vier als weinig acuut toxisch (EC₅₀-waarden tussen 50 en 100%) en één als matig acuut toxisch (EC₅₀ waarden 10-50%). De classificatie van deze effluenten werd in alle gevallen bepaald door de respons in de algentesten. In het rapport worden de gemeten effecten in de algentesten ter discussie gesteld en mogelijk geweten aan overschrijding van (nog onbekende) randvoorwaarden. Op bacteriën, kreeftachtigen en vissen hadden deze effluenten geen acute effecten.

In het kader van het onderzoek 'Acuut toxiciteitsonderzoek uitgevoerd door regionale waterbeheerders' (Baltus, 2001) zijn effluenten van zeven rwzi's onderzocht op acute toxiciteit. Vier rwzi's scoorden toxische effecten in de algentesten. Mogelijk is het hoge ammoniumgehalte van de effluenten hier van invloed geweest op het eindresultaat.

2.1.2 Chronische toxiciteit

Er is in Nederland nog maar weinig onderzoek verricht naar de chronische toxiciteit van rwzi-effluenten. De beperkte beschikbare gegevens zijn weergegeven in Tabel 2 (uit Tonkes *et al.*, 2000).

Tabel 2 Chronische toxiciteitsgegevens van rwzi-effluenten in Nederland

	Resultaat in vol. %	Referentie
Watervlo (<i>Daphnia magna</i>)		
3 rwzi 's	NOEC > 100 %	Tonkes <i>et al.</i> , 1997
1 rwzi	EC50 > 100 %	Berbee <i>et al.</i> , 2000
Zebravis (<i>Danio rerio</i>)		
3 rwzi's	NOEC <3 tot >100%	Tonkes <i>et al.</i> , 1997
1 rwzi	LC50 >100%	Berbee <i>et al.</i> , 2000

In de Nederlandse effluenten van rwzi's wordt alleen bij de vistesten enige chronische toxiciteit aangetroffen. In watervlooiën testen wordt soms zelfs stimulatie van de populatie ontwikkeling door het effluent vastgesteld (Tonkes *et al.*, 2000).

Tijdens recent (2002) uitgevoerd onderzoek in FWVO-kader zijn de effluënten van drie rwzi's op zowel acute als chronische toxiciteit getest. Twee van deze effluënten (rwzi Bosscherveld en Apeldoorn) veroorzaakten geen effecten op algen, vissen en watervlooien, maar wel in de chronische bacterietest (Microtox®). Het derde effluent (rwzi Houtrust) veroorzaakte naast acute effecten bij algen, ook chronische effecten bij watervlooien en vis. Waarschijnlijk waren deze te wijten aan een overschrijding van de randvoorwaarden m.b.t. ammonium (perc comm.E. Roex, RIZA).

Omdat maar weinig informatie beschikbaar over de chronische toxiciteit van Nederlandse rwzi-effluënten, kunnen geen harde conclusies worden getrokken.

Bij chronische toxiciteitstesten in het buitenland met bacteriën, kreeftachtigen en vissen, blijken bacteriën het meest gevoelig te zijn voor stoffen aanwezig in het effluent. Voor de bacterietest Microtox zijn NOEC's gevonden tussen de 12.5 en 50 volume %, voor de kleine watervlo *Ceriodaphnia dubia* zijn NOEC's tussen de 25 en 100 volume % gerapporteerd (Sweet *et al.*, 1997).

2.1.3 Synopsis

Effluënten van Nederlandse rwzi's laten in acute testen weinig toxiciteit zien. De effecten die wel worden gevonden hebben veelal betrekking op algen. In een doorstroomsysteem is een enkele maal tevens toxiciteit voor watervlooien vastgesteld. Bacteriën en vissen lijken minder gevoelig voor de kwaliteit van het Nederlandse effluent. Dit in tegenstelling tot omringende landen waar met name met de bacterietest effecten worden aangetoond.

Chronische toxiciteit van Nederlandse rwzi-effluënten is nog weinig onderzocht.

2.2 Risicoanalyse van effluent

In een aantal gerapporteerde onderzoeken zijn resultaten van chemische en fysische analyses van Nederlands rwzi-effluent opgenomen. Op basis van deze gegevens wordt in deze paragraaf getracht om een inschatting te maken van de geschiktheid van de effluënten voor de kweek van algen en watervlooien en de risico's voor doorvergiftiging en van de aanwezigheid van specifiek werkende toxicanten.

2.2.1 Fysisch chemische randvoorwaarden

Biomassakweek op rwzi-effluent is alleen mogelijk indien de kwaliteit van het effluent voldoet aan de randvoorwaarden van de te kweken organismen. Voor het uitvoeren van toxiciteitstoetsen zijn randvoorwaarden gedefinieerd waaraan het testmedium moet voldoen om geen negatieve invloed op het functioneren van de testorganismen te hebben (anders dan de mogelijke effecten veroorzaakt door aanwezige toxicanten).

In Tabel 3 wordt een aantal relevante fysisch-chemische parameters van rwzi-effluënten vergeleken met de randvoorwaarden voor deze parameters die in toxiciteitstesten worden gesteld. Deze randvoorwaarden zijn niet gelijk aan de tolerantiegrenzen van de organismen. Enige overschrijding van de bedoelde randvoorwaarden wordt nog wel getolereerd, de omstandigheden zijn dan echter voor de organismen sub-optimaal, dus voor kweek minder geschikt. In elk geval is het zeker dat de organismen binnen de randvoorwaarden geen negatieve effecten van deze parameter zullen ondervinden.

De grenzen voor geleidbaarheid (EGV) en het chloride- en nitrietgehalte blijven in de effluënten ruim beneden de grenswaarden voor algen en watervlooien. Zelfs het relatief (ten opzichte van de waarde in Tabel 3) hoge maximale chloridegehalte van 385 mg/l dat in een ander onderzoek gerapporteerd werd door Baltus (2001) vormt geen belemmering voor deze organismen.

Overschrijdingen van de randvoorwaarden voor algen kunnen wel verwacht worden voor de pH, die gemiddeld te laag is en voor het ammonium gehalte dat regelmatig te hoog bevonden wordt. Hierbij moet nog worden opgemerkt dat deze randvoorwaarden gelden voor de in de standaard-

testen gebruikte alg (*Raphidocelis subspicata*). Voor andere algensoorten gelden andere tolerantie grenzen.

De watervlo (*Daphnia magna*) is veel minder gevoelig voor de pH waarde dan de alg en zal dan ook geen problemen hebben met de pH van rwzi-effluenten. Een mogelijk probleem kan wel ontstaan door te hoge ammoniumgehalten.

Tabel 3 Relevante fysisch-chemische parameters van rwzi-effluenten (STOWA, 2001) en de bijbehorende randvoorwaarden voor acute toxiciteitstesten met respectievelijk algen (*Raphidocelis subcapitata*) en watervlooien (*Daphnia magna*) (De Graaf et al., 2000).

Parameter	Eenheid	Minimum	Gemiddeld	Maximum	Randvoorwaarden	
					Alg	Watervlo
EGV	µs/cm	30	60-80	120	<300	<860
Chloride	mg/l	24	70-110	165	<1200	<3000
pH	-	7.1	7.8	8.2	8.0-8.5	5.5-10
Nitriet	mg/l	0.01	0.07	0.3	<60	<20
Ammonium	mg/l	0.1	1-3	6.5	<1.2	<1.4 (pH>8) <2.0 (pH<8)

2.2.2 Metalen

Een aantal zware metalen komt in verhoogde concentraties in het influent van rwzi's voor als gevolg van toepassing in de drinkwatervoorziening (koperen leidingen), in de regenwaterafvoer (zinken dakgoten) of in industriële processen (STOWA, 2001). Doordat de verwijdering van metalen in de rwzi nooit volledig is, zijn deze stoffen ook in het effluent aanwezig. Ruim 90% van de rwzi's heeft debietgewogen gemiddelde effluentconcentraties koper, zink en kwik boven de betreffende grenswaarden (MTR) voor oppervlaktewaterkwaliteit (Rienks *et al.*, 1997; Gommers, 1997).

In Tabel 4 zijn de minimum, gemiddelde en maximum waarden opgenomen van effluent van moderne (derde generatie) rioolwaterzuiveringsinstallaties, waarin vergaande verwijdering van organische verbindingen, nutriënten en gesuspendeerde stoffen plaatsvindt. De tabel is opgesteld op basis van gegevens uit haalbaarheids- en praktijkonderzoeken betreffende het gebruik van effluent op diverse locaties (STOWA, 2001). Voor koper, nikkel en zink blijken de MTR waarden voor oppervlaktewater te worden overschreden.

Tabel 4 Metaalgehalten in effluent van rwzi's. Minimum, gemiddelde en maximum waarden uit STOWA, 2001, maximum waarden uit Baltus, 2001 (met**) en Maximaal Toelaatbaar Risico-waarden (MTR) voor oppervlaktewater (uit VROM, 1999)

Metaal	Minimum	Gemiddeld	Maximum	MTR
	µg/l	µg/l	µg/l	µg/l
Arseen	0.5	0.5-1.0	1 / 2.5*	32
Cadmium	-	<0.1	- / 0.5*	2
Chroom	1	2-4	15 / 14*	84
Koper	1	4	14 / 32*	3.8
Kwik	0.01	0.01	0.03	1.2
Lood	2	2	3 / 30*	220
Nikkel	4	5-6	8 / 15*	6.3
Zink	5	20-30	55 / 180*	40

Tabel 5 Overzicht van effect concentraties van zware metalen voor algen en watervlooien. NOEC waarden voorzien van een ‘*’ zijn geschat op basis van 10% van de EC₅₀. Alles in µg/l

Soort	Stof	NOEC µg/l	Duur dagen	referentie
Alg (<i>S. capricornutum</i>)				
	Cadmium	10.4*	3	Heever & Grobbelaar, 1996
	Koper	68.8*	3	Heever & Grobbelaar, 1996
	Kwik	6.3*	2	Heever & Grobbelaar, 1996
	Lood	28.5*	1	Chen, <i>et al.</i> , 1997
	Nikkel	23.3*	4	Chen, <i>et al.</i> , 1997
	Zink	17.8*	4	Chen, <i>et al.</i> , 1997
Watervlo (<i>D. magna</i>)				
	Arseen	150*	4	Richardson & Gangoilli, 1995
	Cadmium	3.2*	21	Richardson & Gangoilli, 1995
	Chroom	179*	2	Richardson & Gangoilli, 1995
	Koper	10	14	BKH, 1995
	Kwik	5.2*		Richardson & Gangoilli, 1995
	Lood	260	21	Enserink <i>et al.</i> , 1995
	Nikkel	32*		Richardson & Gangoilli, 1995
	Zink	900	2	Bowmer <i>et al.</i> , 1998

Door de gegevens uit Tabel 4 te vergelijken met de effectconcentraties voor metalen voor algen en watervlooien (Tabel 5) blijkt dat van geen van de metalen directe toxische effecten op de watervlooien verwacht hoeven worden. Ook voor de algen vormen de meeste metalen geen risico. Een uitzondering hierop wordt gevormd door lood, koper en zink, waarvan de maximale concentraties in effluenten de NOEC's overschrijden. In het geval van zink liggen de gemiddelde effluentconcentraties zelfs boven de NOEC's.

Overigens kan verwacht worden dat de werkelijke blootstelling van algen aan metalen uit effluent lager zullen zijn dan hierboven is gesuggereerd. Een belangrijk deel van de metalen zal gebonden zijn aan het organisch materiaal dat in rwzi-effluent ruim voorhanden is. Het aldus gebonden materiaal wordt wel bepaald tijdens een chemische analyse van het totale (ongefiltreerde monster), maar is niet opneembaar door algen. De effecten van dezelfde (totale) metaalconcentratie nemen dan ook af naarmate er meer organisch materiaal aanwezig is (STOWA, 2001a). Dit gaat niet op voor watervlooien, omdat zij actief (verontreinigde) voedseldeeltjes uit het water filteren en hierdoor relatief zwaar worden blootgesteld (Weltens *et al.*, 2000).

2.2.3 Organische microverontreinigingen

Organische microverontreinigingen en dan vooral polycyclische aromatische koolwaterstoffen (PAK) worden soms in Nederlandse rwzi-effluenten aangetroffen. Hierbij moet wel worden opgemerkt dat PAK's naast bestrijdingsmiddelen vaak de enige organische microverontreinigingen zijn die in effluenten geanalyseerd worden. De groep van organische microverontreinigingen is echter zeer omvangrijk en het is dan ook niet mogelijk om het risico van deze stofgroep volledig te schatten op basis van de beschikbare informatie.

Op zichzelf vormen de aangetroffen PAK's geen direct toxiciteitsrisico voor algen en watervlooien; de concentraties van de aangetroffen PAK's liggen beduidend onder de Maximaal Toelaatbare Waarden voor oppervlaktewater (VROM 1999; Tabel 6) en dus ook ver beneden de concentraties waarbij toxische effecten zijn te verwachten (Tabel 7).

Tabel 6 Maximale concentraties van PAK's die werden aangetroffen bij de analyse van effluentmonsters van 7 Nederlandse rwzi's. Andere gemeten PAK's werden niet boven de detectiegrens aangetroffen (Baltus, 2001). Maximaal toelaatbaar Risico concentraties voor deze PAK's in oppervlaktewater (VROM, 1999).

PAK's	Aangetroffen (µg/l)	MTR (µg/l)
Fenanthreen	0.06	0.3
Fluorantheen	0.02	0.5
Pyreen	0.01	Geen waarde gegeven

Tabel 7 Overzicht van toxiciteitsgegevens van potentieel risicovolle polycyclische aromatische koolwaterstoffen (PAK's) voor algen en watervlooien.

Stof	NOEC (µg/l)	Duur (d)	referentie
<i>Alg (S. capricornutum)</i>			
Fenanthreen	18*	2	Halling-Sorensen <i>et al.</i> , 1996
Watervlo (D. magna)			
Fenanthreen	18-180	21	De Bruin <i>et al.</i> , 1999
Fluorantheen	85	2	Suedel & Rodgers, 1996
	75-90	10	Suedel & Rodgers, 1996
Pyreen	>100*	1	Wernerson & Dave, 1997

2.2.4 Bestrijdingsmiddelen

Bij een groot aantal rwzi's is de concentratie bestrijdingsmiddelen in het effluent gemeten (STOWA, 1997).

Hierbij zijn de volgende herbiciden aangetroffen:

- Chloorfenoxycarbonzuren: MCPP, MCPA en 2,4-D
- Bentazon
- Fenylureumherbiciden: diuron, chloortoluron en linuron
- Glyfosaat (AMPA: afbraakproduct) en glufosinaat

Daarnaast de volgende insecticiden:

- Diazinon,
- dichloorvoscarbofuran,
- propoxur
- DEET (insectenwerend)

In 2001 is het effluent van zeven rwzi's bemonsterd en geanalyseerd op de aanwezigheid van bestrijdingsmiddelen. In twee monsters werd linaan aangetroffen. In het effluent van één rwzi zijn hiernaast nog een groot aantal andere bestrijdingsmiddelen aangetoond, waaronder simazine (inmiddels verboden), atrazine, diuron, 2,4-D, MCPB (afbraakproduct MCPA), DICAMBA, DEET en glyfosaat. De effluenten van de andere rwzi's werden niet op deze stoffen geanalyseerd (Baltus, 2001).

Bij onderzoek naar het gebruik van bestrijdingsmiddelen in de provincie Utrecht is onder andere gekeken naar bestrijdingsmiddelen die binnen het stedelijk gebied gebruikt worden en derhalve kans lopen om door afspoeling in het rioolwater terecht te komen. Bij wegen en verhardingen binnen de bebouwde kom wordt thans met name glyfosaat gebruikt. In het verleden is tevens veelal gebruik gemaakt van diuron. Verder wordt dichlobenil, MCPA en 2,4 D gebruikt. Van MCPA is bekend dat deze stof gemakkelijk afspoelt.

Naast deze herbiciden worden bij particuliere woningen, volkstuinen, sportterreinen en openbaar groen met name deltamethrin, chloorpyrifos, parathion, permethrin, en diflubenzuron

(insecticide) en pyrazofos (fungicide) gebruikt. Van chloorpyrifos, diflubenzuron, permethrin en deltamethrin is bekend dat deze stoffen gemakkelijk afspoelen (Jongbloed *et al.*, 2002). Uit bovenstaande beschrijving blijkt dat een grote verscheidenheid aan bestrijdingsmiddelen in rwzi-effluenten kunnen worden aangetroffen. Indien gemeten gehalten van bestrijdingsmiddelen worden vergeleken met de effectconcentraties voor algen en watervlooien blijkt dat slechts van een gering aantal stoffen effecten verwacht kunnen worden. Het betreft hier specifiek werkende stoffen met lage effectconcentraties zoals de herbicide atrazine en de insecticiden diazinon en dichloorvos.

Tabel 8 Bestrijdingsmiddelen in rwzi-effluenten, maximale waarden gerapporteerd in STOWA, 1997, en effect concentraties voor algen (verschillende soorten) en watervlooien (*Daphnia* sp.).

Stofnaam	Maximaal gehalte in rwzi-effluent (µg/l)	NOEC (µg/l)	
		Alg	<i>Daphnia</i>
2,4 D	0.63	3320**	23500**
AMPA	16	n.d.	n.d.
Atrazine	3.5	1.4*	8700**
Bentazon	1.9	25700*	12500**
Carbofuran	1.6	2000**	3.86**
Chloorprofam	0.4	320*	n.d.
Chloortoluron	0.08	<10*	6700**
Diazinon	0.24	10000*	0.10**
Dichlobenil	0.12	200**	0.62**
Dichloorvos	0.24	4730*	0.02**
Diuron	6.5	10***	1200**
EPTC	0.19	500*	1400**
Ethofumesaat	0.10	3.9**	1.35**
Fenpropimorf	0.31	80*	240**
Glyfosaat	2.9	64**	78000**
HCH	0.09	78**	160**
Isoproturon	0.09	3**	50700**
Linuron	1.4	10*	12**
MCPA	2.4	56000*	39200**
MCPP	0.51	n.d.	22700**
Methabenzthiazuron	0.7	18*	3060**
Metolachloor	0.8	31*	2500**
Pirimicarb	0.11	50000*	1.7**
Procymidon	0.01	n.d.	n.d.
Propachloor	0.02	10*	780**
Propoxur	1.1	1000*	15**
Simazin	1.0	100*	29**
Sulfotep	0.02	7200**	0.2**
Terbutilazin	0.80	16**	2100**
Tri-allaat	<	12**	43**

): NOEC uit Linders *et al.*, 1994; *) Geschatte NOEC 10% van EC₅₀ uit Tomlin 2000; ****): NOEC uit Foekema ongepubliceerde data

2.2.5 Oppervlakte-actieve-stoffen

Oppervlakte-actieve-stoffen kunnen op twee verschillende manieren in het effluent van rwzi's terecht komen. Enerzijds als de restanten van in het influent aanwezige stoffen die in het zuiveringsproces niet volledig zijn verwijderd, anderzijds worden bij het zuiveringsproces ook oppervlakte-actieve-stoffen toegevoegd om de verwijdering van het actief slib uit het effluent te vereenvoudigen.

De oppervlakte-actieve-stoffen die in rwzi-influenten voorkomen zijn afkomstig uit schoonmaakmiddelen, waarbij vooral textielwasmiddelen een belangrijke bron vormen. Belangrijke stoffen zijn lineaire alkylsulfonaten (LAS) en zeep. In goed werkende zuiveringsinstallaties

worden deze stoffen efficiënt (>99%) verwijderd door afbraak en hechting aan het actief slib. Desondanks kunnen er door de hoge concentraties in het influent nog substantiële hoeveelheden van deze stoffen in het effluent worden aangetoond (Tabel 9) (Feijtel & van de Plasche, 1995).

Tabel 9 Range van influent en effluent concentraties van LAS en zeep zoals gemeten in monsters genomen bij respectievelijk zeven en zes rwzi's (uit Feijtel & van der Plasche, 1995)

	Influentconcentratie	Effluentconcentratie
LAS	3.4 - 8.9 mg/l	0.02 - 0.07 mg/l
Zeep	14 - 45 mg/l	0.09 - 0.36 mg/l

LAS en zeep behoren beide tot de groep van anionische (negatief geladen) surfactants. De polymeren die in rwzi's worden gebruikt voor de slibontwatering zijn kationisch (positief geladen). Deze kationische polymeren (poly elektrolyten) worden in aanzienlijke hoeveelheden gebruikt. Bij het afvalwaterketenbedrijf van het Hoogheemraadschap Uitwaterend Sluizen in Hollands Noorderkwartier werd in 2000 bijvoorbeeld gemiddeld ruim 2000 kg per dag gebruikt (Uitwaterende Sluizen, 2001).

Normaal gesproken worden de poly-elektrolyten in de sliblijn geïntroduceerd. Het afvalwater dat bij de slibontwatering wordt opgevangen en waarin zich mogelijk nog een deel van de toegevoegde poly-elektrolyten bevindt, wordt weer 'aan de voorzijde' in het waterzuiveringscircuit gebracht (pers. mededeling R. het Hart, HHNK). Periodiek worden poly-elektrolyten ook in de voor- en nabezinkbassins (bijvoorbeeld bij risico op slibuitspoeling na hevige regenval) gedoseerd.

Omdat het analyseren van de concentratie van poly-elektrolyten in effluent niet eenvoudig is, zijn bij een onderzoek in opdracht van de STOWA de concentraties op basis van stoffeïenschappen geschat. Dosering van de stof in het nabezink bassin bleken in theorie de hoogste concentraties in het effluent tot gevolg te hebben.

Acrylamide en hydroxypropionitril zijn als bijproducten in de poly-electrolyten bulk aanwezig. Omdat deze stoffen slecht in een rwzi worden verwijderd zullen ook deze stoffen in het rwzi-effluent aanwezig zijn (STOWA, 1995; Tabel 9).

Tabel 10 Berekende concentraties van kationische poly-elektrolyten en twee bij-producten in rwzi-effluenten. De gehalten poly-electrolyten zijn weergegeven als range, afhankelijk van de belasting van de rwzi en de gehanteerde verdunningfactoren (uit STOWA, 1995).

Doseerplaats	Poly-elektrolyt (µg/l)	Acrylamide (µg/l)	Hydroxypropionitril (µg/l)
Voorbezink	17-36	1	0.5
Sliblijn	3-10	0.2	0.1
Nabezink	50	4	2

Toxiciteitsgegevens voor oppervlakte actieve stoffen vertonen een grote variatie. Er bestaat een duidelijk verband tussen de hydrofobiteit en de toxiciteit. Voor alle categorieën (anionische, non-ionische en kationische surfactants) wordt de toxiciteit in het algemeen groter naarmate de alkylketen relatief langer is (Cocheret de la Moriniere, 1996). Zo zijn voor de blauwalg *Microcystis aeruginosa* EC₅₀'s voor LAS met oplopende ketenlengte gerapporteerd van 0.9 mg/l tot 32 mg/l. Het rekenkundig gemiddelde ligt op 5.7 mg/l. Dit komt overeen met de EC₅₀ waarde van 4.7 mg/l die voor de watervlo wordt gerapporteerd. De groenalg *Selenastrum capricornutum* lijkt iets minder gevoelig met een gemiddelde EC₅₀ van 24 mg/l.

De toxiciteit van zeep ligt in dezelfde orde van grootte; de EC₅₀ voor *Daphnia magna* is 10 mg/l (Feijtel & van de Plassche, 1995).

Breedveld & van Loon (1995) vergeleken de toxiciteit van de verschillende groepen polymeren op grond van toxiciteitsdata voor vissen en watervlooien, en kwamen tot de conclusie dat de toxiciteit van anionische en non-ionische polymeren vergelijkbaar is en dat kationische polymeren duidelijk toxischer zijn. Een plausibele verklaring voor de relatief grote toxiciteit van de

kationische moleculen vormen het optreden van ladinginteracties tussen de positief geladen polymeren en de negatief geladen celmembraan.

Er zijn in bovenstaande vergelijking geen resultaten van algen en bacterietesten opgenomen. Door meeweging van resultaten van algentesten kan verwacht worden dat het de toxiciteit van de kationische polymeren nog meer benadrukt zal worden. Juist algen blijken voor kationische stoffen vaak gevoelig te zijn, terwijl er voor anionische en non-ionische surfactants doorgaans geen structurele verschillen worden gevonden tussen de gevoeligheid van verschillende typen aquatische testorganismen, zoals algen, watervlooien of vissen (pers. Mededeling A. Hanstveit, TNO). Ook uit een vergelijking van de resultaten van 11 studies waarin de effecten van de verschillende groepen surfactants op verschillende algen soorten zijn getest, blijkt dat in 10 van deze 11 studies de kationische surfactants de meest toxische groep zijn (Lewis, 1994).

De toxiciteit van kationische poly-electrolyten voor algen en kreeftachtigen (Tabel 11) geeft geen aanleiding om op basis van de berekende effluent concentraties direct toxische effecten te verwachten.

Tabel 11 Effectconcentraties (EC_{50}) van vloeibare kationische polyelektrolyten voor algen en (zoetwater) kreeftachtigen (uit STOWA 1995) en geschatte NOEC waarden ($EC_{50}/10$).

	EC_{50} mg/l	NOEC mg/l
Algen (en bacteriën)	1.8	0.18
Kreeftachtigen	190	19

In het genoemde STOWA onderzoek (1995) wordt middels een PEC/NEC berekening een schatting gemaakt van het risico voor het ontvangend oppervlaktewater van met het effluent geloosde poly-electrolyten en bijproducten. Uit deze berekening werd geconcludeerd dat er geringe risico's bestonden door de aanwezigheid van de poly-electrolyten, maar dat vooral de aanwezigheid van het bijproduct hydroxypropionitril een risico inhoudt voor lozing op kleine oppervlaktewateren. Hierbij is echter wel uitgegaan van een 'worst-case' scenario, met maximale concentraties van deze bijproducten in de bulk en waarbij een veiligheidsfactor van 1000 werd gehanteerd omdat slechts enkele toxiciteitsdata voor vissen bekend waren. Anderzijds werd wel gebruik gemaakt van tenminste vijf maal verdunning van het effluent met oppervlaktewater, iets dat niet aan de orde is indien organismen op puur effluent gekweekt gaan worden. Het is dan ook niet uit te sluiten dat er effecten op watervlooien en/of algen zullen optreden als gevolg van de aanwezigheid van hydroxypropionitril in het effluent. Dit risico is het grootst indien de elektrolyt in de nabezinkbassins wordt gedoseerd.

2.2.6 Synopsis

Uit een vergelijking van uit de literatuur beschikbare gegevens over de samenstelling van Nederlandse rwzi-effluenten met effectconcentraties voor algen en watervlooien, mag worden verwacht dat de effluenten slechts incidenteel bij watervlooien toxische effecten zullen veroorzaken. Als er wel effecten worden waargenomen dan is (in theorie) de kans groot dat deze worden veroorzaakt door te hoge ammonium/ammoniak gehalten of door specifieke toxicanten zoals insecticiden. Effecten op algen komen vaker voor. Vooral de metalen koper en zink kunnen hiervoor verantwoordelijk zijn, naast een te lage pH en de aanwezigheid van herbiciden. Een mogelijk risico wordt nog gevormd door de aanwezigheid van hydroxypropionitril in het effluent, hoewel voor deze stof concrete gegevens over de toxiciteit voor watervlooien en algen ontbreken.

Tenslotte dient te worden opgemerkt dat er slechts een beperkte groep stoffen in rwzi-effluenten is gemeten. Het is daarom niet uit te sluiten dat waargenomen effecten worden veroorzaakt door stoffen of combinaties van stoffen waarvan de aanwezigheid in effluenten nog niet vaststaat.

Bovendien is bekend dat chloreren van rwzi-effluenten als desinfectie stap de toxiciteit van het te lozen effluent kan verhogen. Dit geldt zowel voor acute als chronische toxiciteit (Tonkes *et al.*, 2000). Chlorering vindt vooral plaats bij rwzi's die lozen op oppervlaktewater dat (op niet te grote afstand) ook als zwemwater wordt gebruikt. Chlorering kan in principe ook worden uitgevoerd nadat het effluent het biomassakweek systeem is gepasseerd, indien mocht blijken dat het dan nog desinfectie nodig is, en heeft dan geen invloed op het functioneren van het systeem.

2.3 Risico van bioaccumulatie

In Nederland is tot nu toe tweemaal onderzoek verricht naar het voorkomen van potentieel bioaccumulerende stoffen in rwzi-effluenten. Bij deze testen wordt een kunstmatig substraat aan het effluent blootgesteld. Door de fysische eigenschappen van het substraat zullen lipofiele stoffen uit het effluent zich hierin ophopen. Na verloop van tijd is de concentratie van deze stoffen in het substraat in evenwicht met die in het effluent. De hoogte van de concentratie die in het substraat wordt bereikt is een mate voor de bioaccumulatieve potentie van het effluent. Bij vier van de vijf onderzochte rwzi's was sprake van een zekere bioaccumulatieve potentie (Tonkes *et al.*, 1997; De Maagd, 2000). Het betrof hier onderzoek met kunstmatige substraten (SPME) waarbij naar lipofiele organische verbindingen werd gekeken en niet naar individuele stoffen. Er is slechts beperkt onderzoek gedaan naar het voorkomen van organische microverontreinigingen in rwzi-effluent (zie ook paragraaf 3.2.2.). Van de in de Nederlandse rwzi-effluenten aangetoonde stoffen zijn de lipofiele PAK's bekend om een hoog bioaccumulerend potentieel. Ook in watervlooiën kunnen deze stoffen sterk accumuleren (Tabel 12). De concentraties waarin deze stoffen in (niet industriële) effluenten worden aangetroffen zijn echter zo laag (ver beneden de MTR, zie 2.2.3) dat het risico van bioaccumulatie van PAK's hier kan worden verwaarloosd.

Tabel 12 Overzicht bioaccumulatiefactoren (BCF) per potentieel risicovolle stof. Uitgedrukt als de verhouding tussen de concentratie in het blootstellingswater en in het weefsel.

Stof	BCF (L-kg)	Organisme	Referentie
PAKs			
Fenantreen	600	<i>Daphnia magna</i>	Eastmond <i>et al.</i> , 1984
	1032 – 1424	<i>Daphnia pulex</i>	Trucco <i>et al.</i> , 1983
	325	<i>Daphnia pulex</i>	Southworth <i>et al.</i> , 1978
	323.97	<i>Daphnia magna</i>	Newsted & Giesy, 1987
Fluorantheen	1741.8	<i>Daphnia magna</i>	Newsted & Giesy, 1987
Pyreen	2702.1	<i>Daphnia magna</i>	Newsted & Giesy, 1987
	2702	<i>Daphnia pulex</i>	Southworth <i>et al.</i> , 1978
	2200	<i>Daphnia magna</i>	Granier <i>et al.</i> , 1999
Metalen			
Koper	1100-27000	<i>Daphnia magna</i>	Kramer <i>et al.</i> , 2001
Insecticiden			
Chloorpyrifos	62-1700	Zoetwatervis	De Bruin <i>et al.</i> , 1999

Barron *et al.* (1996) hebben een onderzoek verricht naar de effecten van PCB-accumulatie in vissen bij blootstelling aan rwzi-effluent in Michigan (USA). Zij hebben geen verschil geconstateerd in groei, gezondheid, sterfte en abnormaal gedrag tussen een controle en een aan rwzi-effluent blootgestelde groep. Het betrof PCB-gehalten na 28 dagen te zijn blootgesteld aan 8 vol. % afvalwater. PCB's worden echter niet verwacht in effluenten van Nederlandse niet industriële rwzi's.

Er zijn geen data van bioconcentratiefactoren voor oestrogenen beschikbaar. Gebaseerd op de log Kow waarden wordt verwacht dat kunstmatige oestrogenen (nonylfenolen) in geringe mate zullen bioaccumuleren (Okkerman *et al.*, 2001).

Ook de in de effluenten aanwezige metalen zouden tot op zekere hoogte kunnen accumuleren. De accumulatie van metalen is echter niet het gevolg van lipofiliteit, zoals bij de organische stoffen het geval is. Metalen worden dan ook niet geaccumuleerd in de kunstmatige substraten waarmee de bioaccumulatie potentie wordt bepaald.

Gibbs & Miskiewicz (1995) hebben verhoogde Hg-concentraties aangetroffen in vissen rond lozingspunten van grote rwzi's in Australië. Mc. Lean *et al.* (1991) en andere onderzoekers hebben dit voor Hg, As, Zn en Cd al eerder geconstateerd. De concentraties koper en zink in het lichaam kunnen doorgaans goed door organismen worden gereguleerd, waardoor de kans op het ontstaan van extreme waarden beperkt is. Desondanks zijn voor koper aanzienlijke bioaccumulatie factoren voor *Daphnia* gerapporteerd (Tabel 12).

Tijdens experimenteel onderzoek in het kader van het in de inleiding genoemde 'kwekelbaars-jesproject' zijn stekelbaarzen gedurende 21 dagen gevoed met watervlooiën die leefden op het effluent van rwzi Eversteekooog op Texel. Na afloop is het gehalte aan koper en zink bepaald in de watervlooiën en de stekelbaarzen (Groot, 1998). Het effluent bevatte relatief lage gehalten van deze metalen, respectievelijk 1.8 en 28 µg/l voor koper en zink (totaal concentraties). Het kopergehalte was daarmee vergelijkbaar met dat van het oppervlaktewater dat als referentie diende. Het zinkgehalte in het effluent was 14 maal hoger dan in het oppervlaktewater. In het weefsel van de watervlooiën uit het effluent en van de stekelbaarzen die ermee gevoerd werden, werd geen verhoogd gehalte van koper of zink geconstateerd.

Van oppervlakte actieve stoffen (bijv. poly-elektrolyten) wordt geen accumulatie verwacht omdat het hier over het algemeen grote moleculen betreft die niet in staat zijn celmembranen te passeren (Breedveld & van Loon, 1995).

2.4 Risico van endocrine effecten

Onderzoek naar de hormoonontregelende werking van stoffen staat nog in de kinderschoenen. Het recent afgeronde LOES project (Min. V&W, 2002) geeft een goed overzicht van de huidige stand van kennis. Het is nog niet geheel duidelijk welke stoffen als hormoonontregelaars fungeren. Een aantal stofgroepen is echter inmiddels wel als zodanig geïdentificeerd. Deze stoffen kunnen worden verdeeld in twee hoofdgroepen, oestrogenen en xeno-oestrogenen (Tabel 13).

Tabel 13 Stoffen en bronnen van hormoonontregelende stoffen (Vethaak et al., 2002).

Stofgroep	Gebruik/bron
Oestrogenen	
Natuurlijke oestrogene hormonen, waaronder oestradiol en oestron	Gewervelde dieren, mensen inclusief, produceren hormonen en scheiden ze uit
Synthetisch oestrogen hormoon: ethinyloestradiol	Toegepast in de anticonceptiepil, wordt door vrouwen uitgescheiden
Xeno-oestrogenen	
Bisfenol-A	Een grondstof voor de vervaardiging van specifieke plastics zoals polycarbonaat voor flessen
Alkylfenolen en alkylfenoethoxylaten	Toegepast in industriële reinigingsmiddelen
Ftalaten	Gebruikt als weekmakers in plastics
Polybroombifenylen en polybroomdifenylethers	Broombevattende verbindingen die als brandvertragers in bijvoorbeeld textiel, computers, tv's en bekleding van meubels worden verwerkt

Oestrogenen zijn in ruw communaal afvalwater aantoonbaar. Oestron en 17 β -oestradiol komen in de hoogste concentraties (15 – 150 ng/l) voor, 17 β -oestradiol tot 15 ng/l. Na biologische zuivering waren 17 β - en 17 α -oestradiol niet meer in het effluent van een rwzi aantoonbaar. Oestron werd gemiddeld voor 94% verwijderd in een rwzi tot een concentratie van minder dan 11 ng/l. De stof 17 β -ethinyloestradiol werd slechts één keer (2.6 ng/l) in het effluent van een rwzi aangetoond.

Xeno-oestrogenen zijn industriële (bij)producten die onbedoeld een oestrogene werking hebben. Bisfenol-A is aangetroffen in 250-1000 ng/l in ruw stedelijk afvalwater van huishoudelijke oorsprong. Het verwijderingsrendement van een rwzi voor deze stof verschilt sterk.

Alkylfenol(ethoxylaten) vertonen sterk variërende concentraties in ongezuiverd rioolwater (<0.8 – 125 μ g/l, nonylfenoethoxylaten; <0.2-19 μ g/l, nonylfenolen). In biologisch gezuiverd effluent liggen de concentraties onder de detectiegrens. In het zwevende stof van dit effluent bevindt zich wel alkylfenol(ethoxylaten).

Van de ftalaten zijn DEP (<4-44 μ g/l) en DEHP (<13 – 101 μ g/l) de twee meest voorkomende in ruw rioolwater. Deze stoffen hebben een relatief lage oestrogene potentie. In een rwzi worden alle ftalaten verwijderd tot concentraties beneden de 1 μ g/l, met uitzondering van DEHP.

Van de polybroomdifenylethers (PBDE's) waren voornamelijk de congenen 47, 99 en 209 aantoonbaar in alle monsters ruw stedelijk afvalwater (Vethaak *et al.*, 2002).

Ondanks efficiënte verwijdering bevat het effluent van rioolwaterzuiverings-installaties nog steeds waarneembare hoeveelheden hormonen (oestron), bisfenol-A en alkylfenol ethoxylaten. Op basis van een vergelijking met bekende data over oestrogeniteit kan geconcludeerd worden dat concentraties in effluenten van rwzi's nog steeds oestrogene werking kunnen hebben (Tabel 14). Deze werking wordt bevestigd door in vivo assays met gebruik van vis en waargenomen 'vervrouwelijking' bij mannelijke wilde brasem in oppervlaktewateren waar rwzi-effluent in geloosd wordt. Het risico voor het ontstaan van oestrogene effecten bij een rwzi is moeilijk op voorhand te schatten, er bestaan grote verschillen tussen de geteste effluenten (Vethaak *et al.*, 2002).

Tabel 14 Overzicht van toxiciteitsgegevens van(xeno)-oestrogenen (Vethaak *et al.*, 2002)

Stof	Parameter	Concentratie	Bereikt in rwzi-effluent
17 β -ethinyloestradiol	LOEC (vitellogenine-inductie)	0.5 ng/l	Mogelijk (<0.3 – 2.6 ng/l)
	LOEC (reproductie)	4 ng/l	Nee (<0.3 – 2.6 ng/l)
	LOEC (histologie & morfologie)	0.1 ng/l	Mogelijk (<0.3 – 2.6 ng/l)
Oestron	LOEC (vitellogenine-inductie)	32-66 ng/l	Nee (< 11 ng/l)
Oestradiol	LOEC (vitellogenine-inductie)	10-100 ng/l	Nee (< 0.8 ng/l)
Bisfenol-A	NOEC (biochemische en populatie effecten)	0.4 – 11 mg/l	Nee (<43-4090 ng/l)
Octylfenol	LOEC (vitellogenine-inductie)	5 μ g/l	Nee (<0.5-1.3 μ g/l)
	LOEC (verstoorde groei testis)	30 μ g/l	Nee (<0.5-1.3 μ g/l)
Nonylfenolen	NOEC (vitellogenine-inductie)	0.5 – 10 μ g/l	Mogelijk (<0.7 μ g/l)

2.5 Micro-organismen

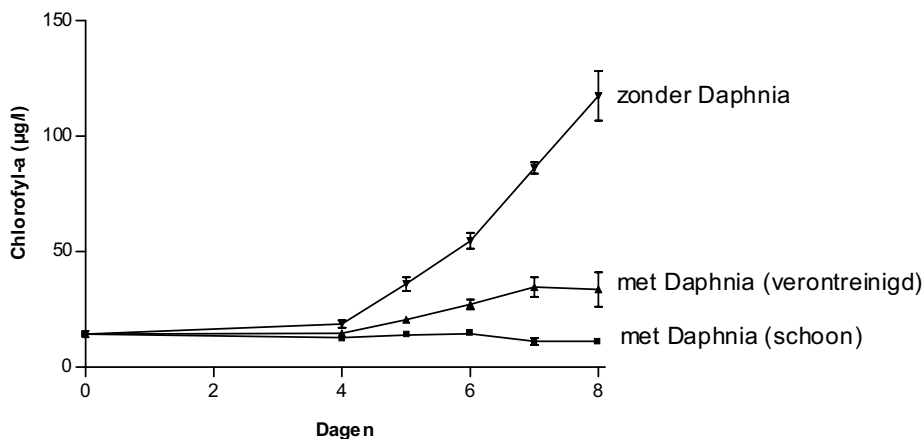
Aangezien de huidige normen voor effluent niet voorzien in een regulier meetprogramma voor micro-organismen, worden deze slechts incidenteel gemeten. *Cryptosporidium baileyi* en *C. meleagridis* zijn belangrijke ziekteverwekkers bij vogels. *C. nasorum* is een belangrijke ziekteverwekker bij vissen. *Giardia lamblia*, *G. muris* en *G. adae* kunnen als diarreeverwekkende parasieten bij vogels voorkomen. Infectiegevaar ontstaat door het inslikken van oöcysten. De rwzi verwijdert deze oöcysten ten dele (STOWA, 2001). In helofytenfilters worden micro-organismen echter efficiënt verwijderd.

Micro-organismen vormen dus een potentieel risico bij een biomassakweek systeem waar vissen en vogels intensief in contact komen met nog niet nabehandelde rwzi-effluenten. Door de aanleg van helofyten filters kan dit risico sterk worden verminderd.

3 Experimenteel onderzoek

De geschiktheid van een aantal rwzi-effluenten voor biomassa kweek werd bepaald in de plankton-ecoassay. In de plankton ecoassay wordt gedurende 8-10 dagen de ontwikkeling van algen en watervlooien gevolgd. Bij een langere testduur worden de gegevens onbetrouwbaar doordat er risico op spreiding tussen de replica's ontstaat. In standaard testen worden twee test situaties gecreëerd: Een situatie met alleen algen, waarin de algenontwikkeling gevolgd kan worden en een situatie waarin algen en watervlooien gezamenlijk aanwezig zijn. In deze situatie begrazen de watervlooien de algen waardoor de algendichtheden laag blijven (Figuur1). Een verminderde conditie van de watervlooien komt tijdens de test tot uiting in een minder gecontroleerde algenontwikkeling en aan het eind van de test in lage watervlooien dichtheden.

Omdat in dit project met name de ontwikkelingsmogelijkheden van watervlooien op puur effluent centraal stonden werd nog een derde testsituatie toegevoegd waarin de ontwikkeling van de watervlooien op puur effluent, dus zonder extra voedsel (algen), kon worden gevolgd.



Figuur 1 Voorbeeld van de algenontwikkeling (als chlorofyl-a) in een ecoassay, waarin systemen zonder watervlooien werden vergeleken met systemen met watervlooien(Daphnia) al dan niet verontreinigd met een lage concentratie van een voor watervlooien giftige stof (32 µg/l Dimethoate).

3.1 Bemonsterde rwzi's

In totaal werden voor dit project negen rwzi's bemonsterd (Tabel 15). Bij zeven hiervan zijn reeds moerassystemen aanwezig (Eversteekooog, Tilburg-Noord, Land van Cuijk, Kaatsheuvel), of wordt de aanleg van een moerassysteem overwogen (Geestmerambacht, Wervershoof, Ameland). Als achtste werd voor rwzi Bosscherveld (Maastricht) gekozen, omdat deze op datzelfde moment tevens bemonsterd werd in het kader van de FWVO (Functionele Werkgroep Verontreiniging Oppervlaktewateren, waarin alle directies van Rijkswaterstaat zijn vertegenwoordigd), waardoor de daarbij gegenereerde analyse gegevens gebruikt konden worden bij de interpretatie van de onderzoeksresultaten. De rwzi Ameland werd op speciaal verzoek (en met financiële ondersteuning) van Wetterskip Fryslân aan het onderzoek toegevoegd.

Met uitzondering van rwzi de Cocksdorp worden op alle bemonsterde rwzi's polyelektrolyten gebruikt voor de slibontwatering.

Om logistieke en technische redenen werd het benodigde effluent eenmalig verzameld, er werd dus geen 24 uren mengmonsters genomen

Tabel 15 Gegevens van de voor het project bemonsterde rwzi's

RWZI	Beheerder	Helofyten filter
Eversteekoog	HHNK	Aanwezig
De Cocksdorp	HHNK	In overweging
Geestmerambacht	HHNK	In overweging
Wervershoof	HHNK	In overweging
Tilburg-Noord	Waterschap De Dommel	Aanwezig
Land van Cuijk	Waterschap De Maaskant	Aanwezig
Kaatsheuvel	Hoogheemraadschap West-Brabant	Aanwezig
Bossherveld	Zuiveringsschap Limburg	Niet aanwezig
Ameland	Wetterskip Fryslân	In overweging

3.2 Methoden

3.2.1 Plankton ecoassay

Per rwzi werd 300 liter effluent verzameld in polyethyleen vaten. Het effluent werd dezelfde dag naar het laboratorium in Den Helder getransporteerd, alwaar het gedurende de nacht bij ca. 15°C werd bewaard in afgesloten vaten. De volgende ochtend werd het effluent per rwzi verdeeld over zes vaten (h 80 cm, Ø 40 cm), aan de binnenzijde voorzien van een (disposable) polyethyleen coating. In de vaten werden in duplo drie verschillende testsituaties gecreëerd (Tabel 16).

Tabel 16 Overzicht van de toevoegingen van nutriënten, algen en watervlooien aan het rwzi-effluent voor het creëren van de verschillende testsituaties

Behandeling	Toevoegingen		
	Nutriënten	Algen (15 µg/l Chl-a)	Watervlooien (15 ind/l)
Daphnia	Nee	Nee	Ja
Alg	Ja	Ja	Nee
Alg & Daphnia	Ja	Ja	Ja

De eerste testsituatie ('Daphnia') was erop gericht om de ontwikkelingsmogelijkheden van watervlooien op het pure effluent te onderzoeken. Aan deze vaten werden watervlooien (*Daphnia magna*) toegevoegd in een dichtheid van 15 individuen per liter. Deze watervlooien waren afkomstig uit een grootschalige laboratoriumkweek met een natuurlijke (niet gemani-puleerde) leeftijdsopbouw.

De tweede testsituatie ('Alg') richtte zich op de ontwikkelingsmogelijkheden van algen in het medium. Om het effect van eventueel nutriëntengebrek op te heffen werd aan deze testvaten naast algen (*Chlorella perinoidosa*, ca. 15 µg/l chlorofyl-a) tevens stikstof en fosfor toegevoegd in de verhoudingen zoals gehanteerd in het OECD voorschrift voor het uitvoeren van algen testen (Tabel 17).

In de derde testsituatie werd de ontwikkeling van algen en watervlooien gezamenlijk getest.

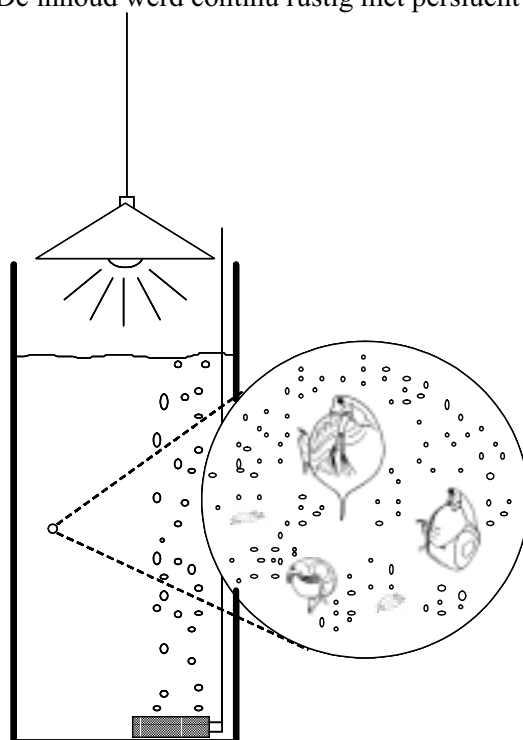
In deze vaten werden nutriënten, algen en watervlooien toegevoegd.

Als referentie werden vaten ingezet met volledig OECD test medium (Tabel 17), hierin werden de testsituaties 'Alg' en 'Alg en Daphnia' gecreëerd. De situatie met alleen watervlooien ('Daphnia') werd achterwege gelaten omdat de watervlooien in het OECD medium zonder toegevoegde algen zouden verhongeren.

Tabel 17 Samenstelling van het in de ecoassay als referentie gebruikte OECD algen medium (OECD, 1984).

	$\mu\text{mol/L}$
NH_4Cl	280
KH_2PO_4	12
$\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	61
$\text{MgCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$	59
$\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	122
NaHCO_3	1790
$\text{C}_6\text{H}_8\text{O}_7\text{Fe} \cdot 3\text{H}_2\text{O}$	0.3
$\text{Na}_2\text{EDTA} \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	0.3
H_3BO_3	2.99
$\text{MnCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$	2.1
$\text{Na}_2\text{MoO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	0.03

De vaten stonden bij 15°C opgesteld in een temperatuur gecontroleerde ruimte. Elk vat was voorzien van een eigen lichtbron (Philips MLR, 160 Watt) waarmee het vat gedurende 16 uur per etmaal werd belicht. De inhoud werd continu rustig met perslucht belucht (Figuur 2).



Figuur 2 Schematische weergave van de planktonassay opstelling. Watervlooien en algen worden gedurende 8-10 dagen gezamenlijk blootgesteld in een 50 L-vat. Voor meer details wordt verwezen naar de tekst.

Bij aanvang van de test werd het ammonium gehalte van het water bepaald. De totale testduur was 8 tot 10 dagen. Tijdens deze periode werd meerdere malen de algen biomassa bepaald als de concentratie chlorofyl-a. Dit gebeurde met behulp van een Moldeanke fluorometer. Op dezelfde momenten werden met WTW-elektrodes ook de temperatuur, de pH en het zuurstofgehalte bepaald.

Aan het eind van de test werd de totale inhoud van de vaten waar watervlooien aan waren toegevoegd over een 55 μm planktonnet gegoten. De verzamelde watervlooien werden geconserveerd met formaline. Op een later tijdstip werden door telling van submonsters onder een microscoop, de totale aantallen watervlooien in de monsters bepaald.

De algenontwikkeling werd uitgedrukt als de relatieve groeisnelheid die werd verkregen door de verzamelde gegevens over de chlorofyl-a concentratie te fitten volgens de formule voor exponentiele groei. Hiervoor werd gebruik gemaakt van het statistische softwarepakket GraphPad Prism (versie 2.1). De statistische significantie van de gevonden waarden ten opzichte van de referentie is per testserie bepaald met behulp van de Dunnet's multiple comparison test. Bij deze toets wordt rekening gehouden met de spreiding over alle replica's, waardoor de kans op een vals positief (=significant) resultaat lager is dan wanneer alleen paarsgewijs wordt getoetst. De resultaten van de Dunnet's test kunnen dan ook als conservatief worden beschouwd.

3.2.2 Chemische analyses

Kort voordat het verzamelde water werd verdeeld over de testvaten werden van elk effluent van de tweede en derde testserie twee monsters voor chemische analyse genomen.

Voor de analyse van acht zware metalen werd een liter effluent verzameld in polyethyleen flessen. Deze werden diepgevroren ($<-20^{\circ}\text{C}$) opgeslagen voordat zij werden getransporteerd naar het laboratorium van OMEGAM (Amsterdam) waar de analyse plaatsvond. Een effluent monster van rwzi Bosscherveld werd (in het kader van het FWVO onderzoek) geanalyseerd bij TAUW (Deventer), voor analyse werd dit monster bewaard bij 4°C .

De metaalanalyse werd, na ontsluiting van de monsters met salpeterzuur, uitgevoerd cf. NEN 6426 met behulp van ICP-AES. Bij deze bepaling is dus het totaal gehalte bepaald.

De aanwezigheid van stoffen met een bioaccumulerende potentie werd bepaald door het RIVO (IJmuiden). De monsters voor deze analyse werden genomen in glazen flessen waaraan ter fixatie een kleine hoeveelheid zilvernitraat werd toegevoegd. De monsters werden vervolgens naar het RIVO getransporteerd waar de hoeveelheid potentieel bioaccumulerende stoffen werd bepaald met behulp van PDMS (=polydimethylsiloxane) fibers. Met dezelfde methode zijn ook de effluents die in het kader van de FWVO zijn bemonsterd werden geanalyseerd.

Elk monster werd in 3-voud volgens het RIZA SPME-protocol (de Maagd, 2002) en de methode bij Verbruggen *et al.* (2000) geanalyseerd. Gebruik werd gemaakt van $100\ \mu\text{m}$ PDMS fibers. SPME-extracties werden uitgevoerd in voorgespoelde 250 ml extractieflessen. De flessen werden tot de bovenkant gevuld met monster zodat er geen bovenstaande lucht meer aanwezig was, en afgesloten met een PTFE-seal. De fiber werd door het PTFE seal in het midden van het monster gebracht. Het monster werd gedurende 24 uur geroerd. Na 24 uur werd de fiber voorzichtig uit het monster verwijderd en gedroogd met een tissue en direct geïnjecteerd op GC-FID. Als GC-kolom werd een DB-1 (L 10 m x ID 0.25 mm, filmdikte $0.1\ \mu\text{m}$) gebruikt. Kwantificering vond plaats met behulp van een externe standaard (2,3-dimethylnaftaleen). De molaire respons (Cfiber) werd berekend aan de hand van de externe standaard respons en het PDMS fiber volume.

3.3 Resultaten

3.3.1 Eerste testserie

De eerste serie effluents werd verzameld op 17 oktober 2001. Hierbij werden de Noord-Hollandse rwzi's bemonsterd: De Cocksdorp, Eversteekoog, Geestmerambacht en Wervershoof. De ecoassay werd ingezet op 18 oktober en op 26 oktober 2001 beëindigd.

Bij aanvang van de test werd een aantal karakteristieken van het effluent gemeten (Tabel 18). Geen van deze waarden zou in principe de ontwikkeling van algen of watervlooiën in de weg moeten staan.

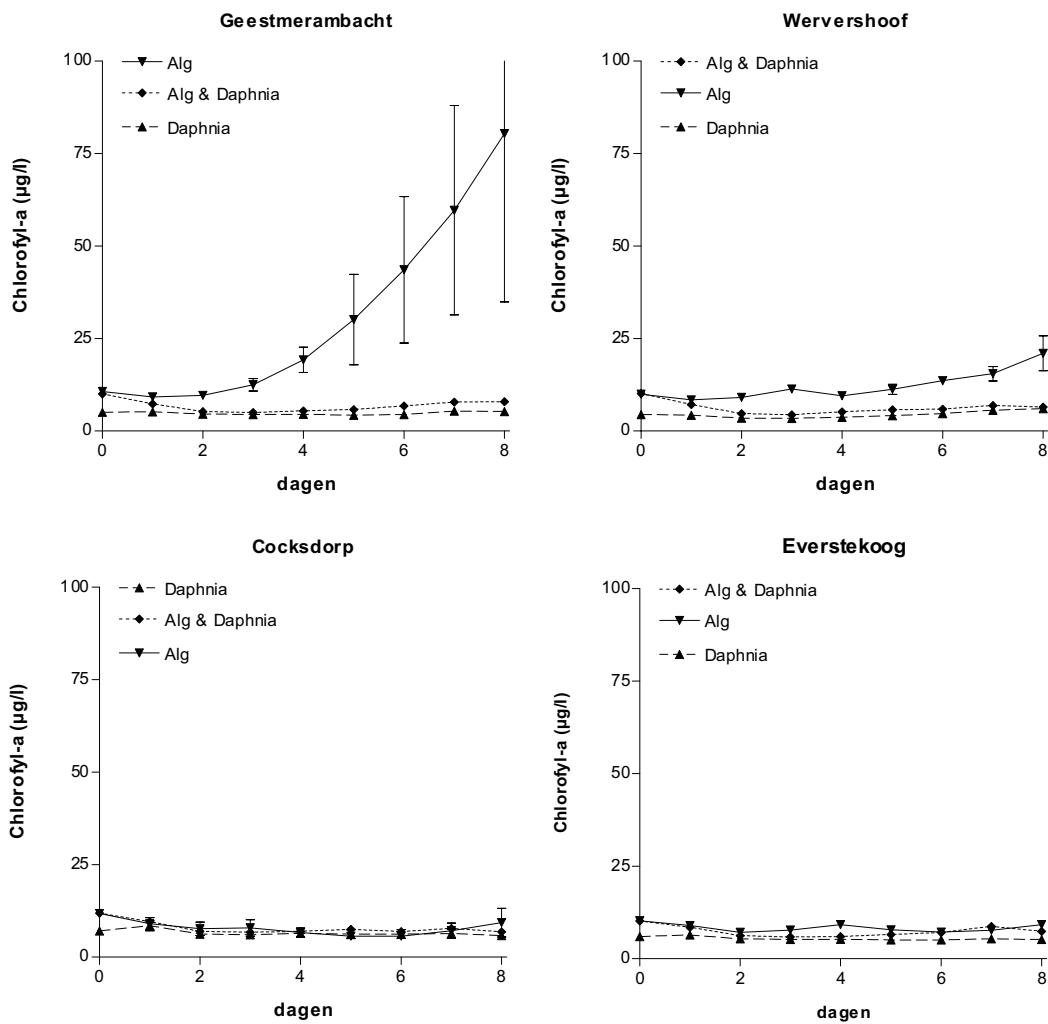
Tabel 18 Enkele karakteristieken van de geteste effluenten bij aanvang van de eerste serie ecoassays

Rwzi	NH₄⁺ (mg N/l)	PH -	Geleidbaarheid (µs/cm)
Geestmerambacht	<10	7.4	985
Wervershoof	<10	7.4	870
De Cocksdorp	<10	7.6	827
Everstekeoog	<10	7.6	883

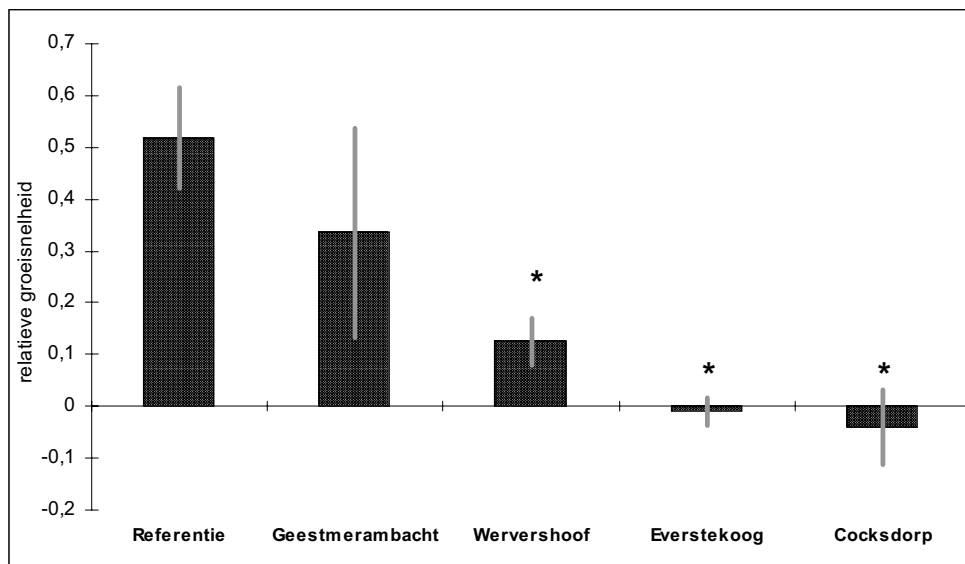
De algenontwikkeling in de systemen zonder watervlooiën was alleen in het Geestmerambacht effluent vergelijkbaar met de referentie (Figuur 3 & Figuur 4). In het Wervershoof effluent werd nog enige algenontwikkeling waargenomen, terwijl in de beide effluenten van Texel (De Cocksdorp en Everstekeoog) geen enkele algengroei op gang kwam.

In de systemen met algen en watervlooiën bleef de algendichtheid laag. Dit wijst erop dat de geproduceerde algen (in met name het Geestmerambacht effluent) efficiënt door de watervlooiën werden gegeten.

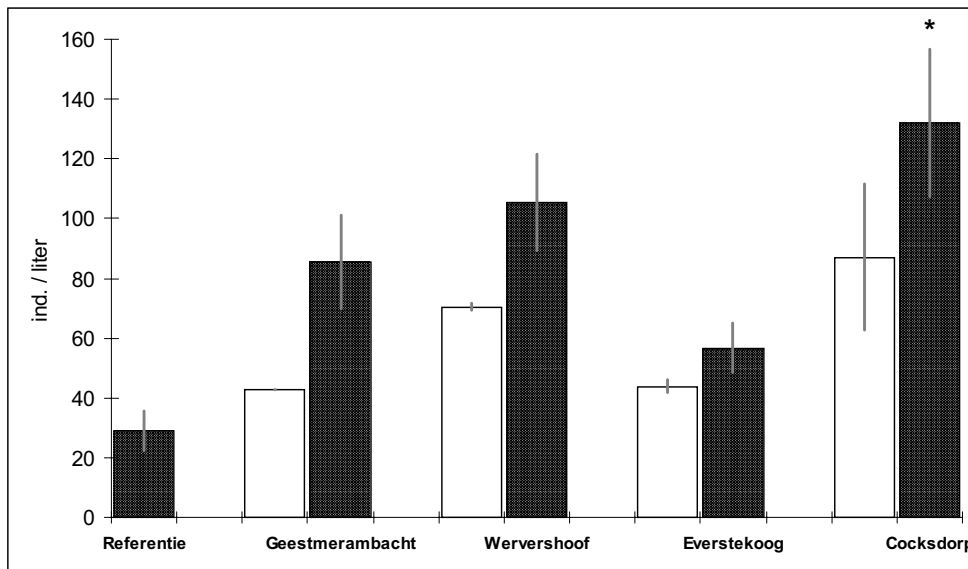
Ook uit de hoeveelheid watervlooiën aan het eind van de test blijkt dat de watervlooiën weinig hinder hebben ondervonden van het effluent (Figuur 5). In alle effluenten lagen de aantallen hoger dan in de referentie, hoewel dit verschil alleen in het effluent van rwzi de Cocksdorp met toegevoegde algen statistisch significant was. Opvallend is dat de hogere aantallen watervlooiën werden gevonden in de systemen waar ook algen aan waren toegevoegd. Dit was zelfs het geval in de systemen waar de algen nauwelijks of niet groeiden.



Figuur 3 Ontwikkeling van de algenbiomassa (uitgedrukt als Chlorofyl-a) in het effluent van rwzi Geestmerambacht, Wervershoof, De Cocksdoorp en Eversteekoo. De verschillende behandelingen worden beschreven in de tekst.



Figuur 4 Relatieve groeisnelheid van algen in de effluents tijdens de eerste testserie. Weergegeven is de testsituatie 'Alg'. '*' geeft aan dat de waarden significant ($p < 0.05$) afwijken van de referentie.



Figuur 5 Aantallen waterbloeiën per liter in de rwzi-effluenten aan het eind van de eerste test serie. De witte kolommen vertegenwoordigen de resultaten uit de testsituatie 'Daphnia', de grijze kolommen de testsituatie 'Alg & Daphnia'. '*' geeft aan dat de waarden significant ($p < 0.05$) afwijken van de referentie.

3.3.2 Tweede testserie

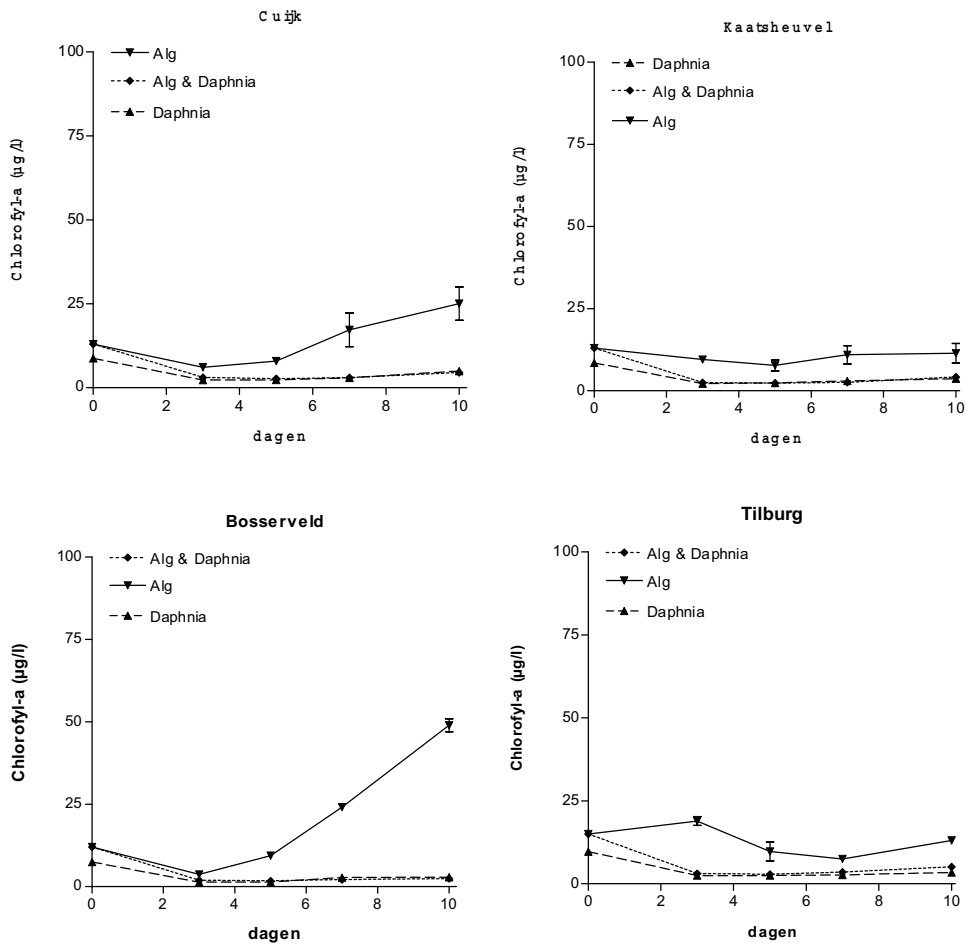
Op 22 augustus 2002 werd de tweede serie effluenten verzameld. Ditmaal betrof het rwzi's uit het zuid-oosten van Nederland: Bosscherveld, Land van Cuijk, Tilburg en Kaatsheuvel. De dagen voor de bemonstering was er sprake van hevige regenval, waardoor het debiet door de rwzi's ten tijde van de bemonstering erg hoog was.

De ecoassay werd ingezet op 23 augustus 2002. De eindbemonstering vond tien dagen later plaats op 2 september 2002.

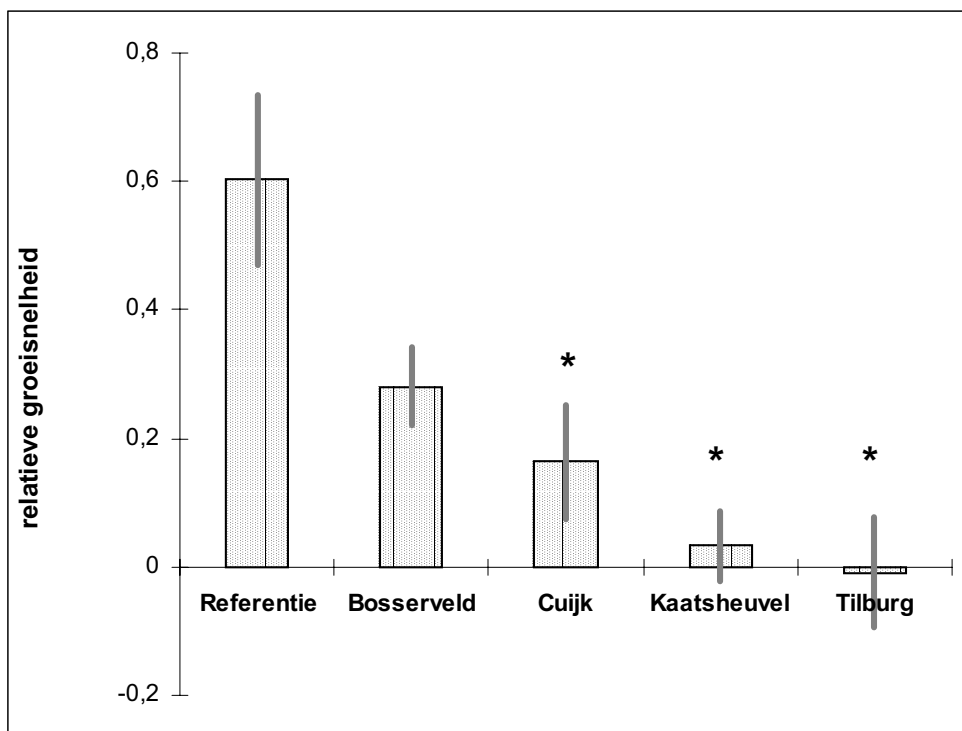
Tabel 19 Enkele karakteristieken van de geteste effluenten bij aanvang van de tweede serie ecoassays

Rwzi	NH ₄ ⁺ (mg N/l)	PH -	Geleidbaarheid (µs/cm)
Bosscherveld	0.04	7.2	487
Land van Cuijk	2.8	7.5	400
Tilburg	0.03	7.8	576
Kaatsheuvel	<0.03	7.3	336

Ook in de tweede serie bleek de ontwikkeling van de algen niet in alle effluenten goed te verlopen. De beste ontwikkeling werd gevonden in het effluent van het rwzi Bosscherveld en in iets mindere mate van rwzi Land van Cuijk (Figuur 6 & Figuur 7). Hoewel ook in het Bosscherveld effluent de groeisnelheid van de algen achter bleef bij de referentie was deze als enige niet significant lager dan in de referentie, waar de groeisnelheid vergelijkbaar was met die uit de eerste testserie. In het effluent van rwzi Tilburg en Kaatsheuvel was nauwelijks ontwikkeling van de toegevoegde algen waarneembaar.

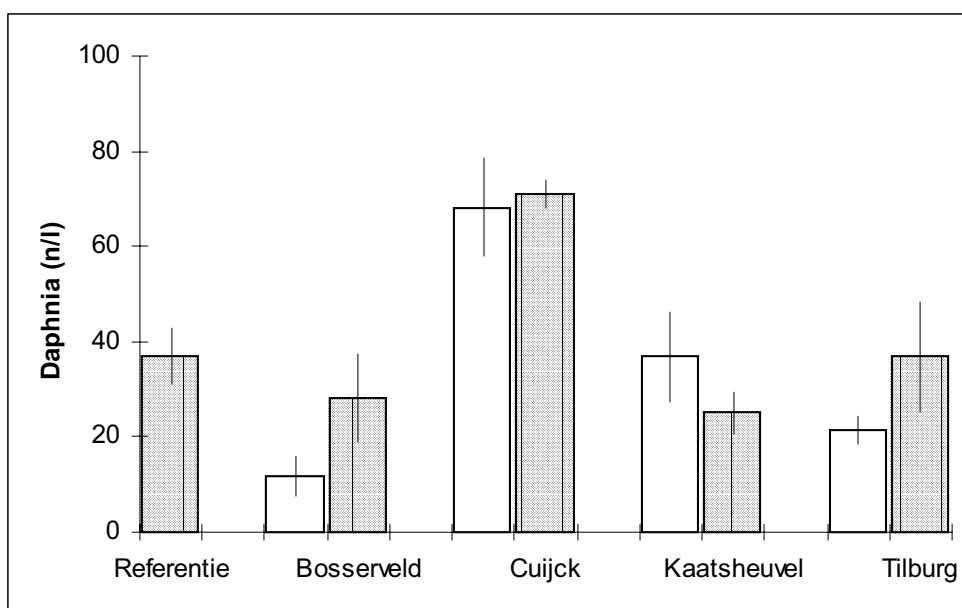


Figuur 6 Ontwikkeling van de algenbiomassa (uitgedrukt als Chlorofyl-a) in het effluent van rwzi Land van Cuijk, Kaatsheuvel, Bosscherveld en Tilburg. De verschillende behandelingen worden beschreven in de tekst.



Figuur 7 Relatieve groeisnelheid van algen in de effluënten tijdens de 2e testserie. Weergegeven is de testsituatie 'Alg'. '*' geeft aan dat de waarden significant ($p < 0.05$) afwijken van de referentie.

De aantallen watervlooien aan het eind van de test vertoonden een ander patroon (Figuur 8). In het effluent van rwzi Land van Cuijk hadden zich meer watervlooien ontwikkeld dan in de overige effluënten waar overeenkomstig de referentie tussen de 20 en 40 individuen per liter werden aangetroffen. In het pure effluent van rwzi Bosscherveld bevonden zich de laagste dichtheden. De toevoeging van de algen had hier en in het effluent van rwzi Tilburg een gunstige invloed op de aantallen watervlooien. Mogelijk werd de ontwikkeling van de watervlooien beperkt door voedselgebrek. In geen van de gevallen waren de daphnia dichtheden significant verschillend van de referentie.



Figuur 8 Aantallen watervlooiën per liter in de rwzi-effluenten aan het eind van de tweede test serie. De witte kolommen vertegenwoordigen de resultaten uit de testsituatie 'Daphnia', de grijze kolommen de testsituatie 'Alg & Daphnia'.

3.3.3 Derde testserie

De effluenten voor de derde en laatste testserie werden verzameld op 19 september 2002 bij de rwzi's Eversteekoog en Ameland. Bij rwzi Eversteekoog werd een dubbele hoeveelheid effluent verzameld. De extra partij werd gedurende het overnachten krachtig belucht om zo het aërobe zuiveringsproces te verlengen.

Op 20 september 2002 werd de ecoassay ingezet en tien dagen later, op 30 september 2002 beëindigd.

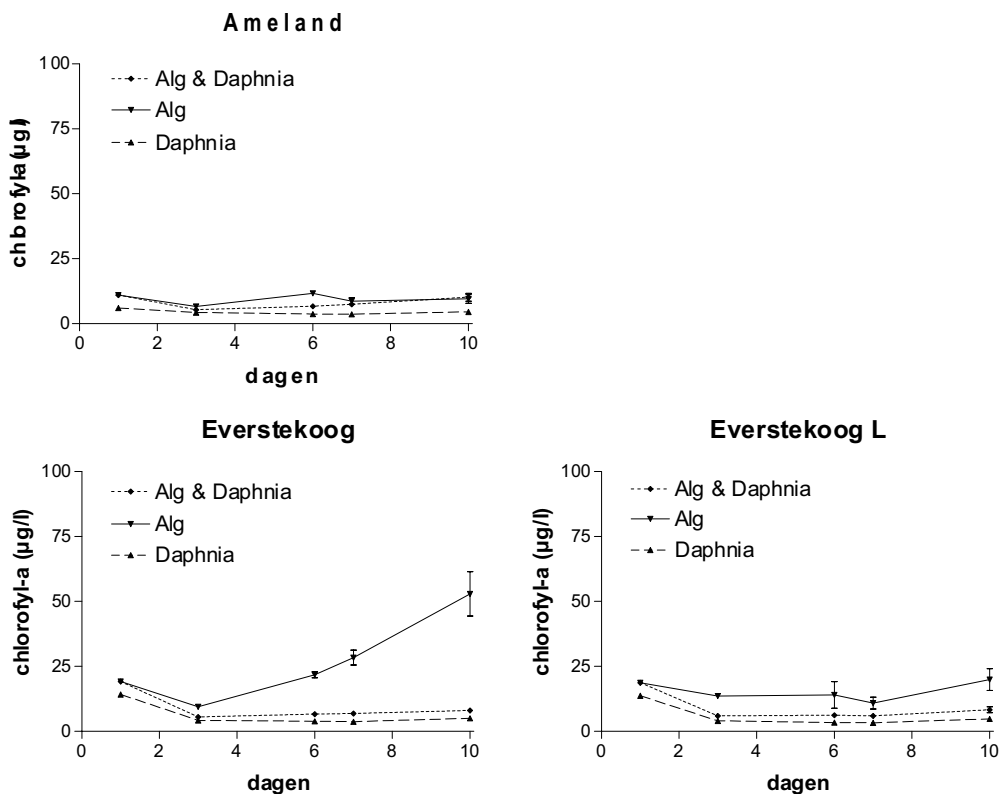
Tabel 20 Enkele karakteristieken van de geteste effluenten bij aanvang van de derde serie ecoassays. De twee geteste partijen van rwzi Eversteekoog zijn als een partij verzameld. 'Eversteekoog L' is voor het inzetten van de test krachtig belucht.

Rwzi	NH ₄ ⁺ (mg N/l)	PH -	Geleidbaarheid (µs/cm)
Ameland	<0.03	7.1	826
Eversteekoog	<0.03	7.4	812
Eversteekoog L	<0.03	7.8	808

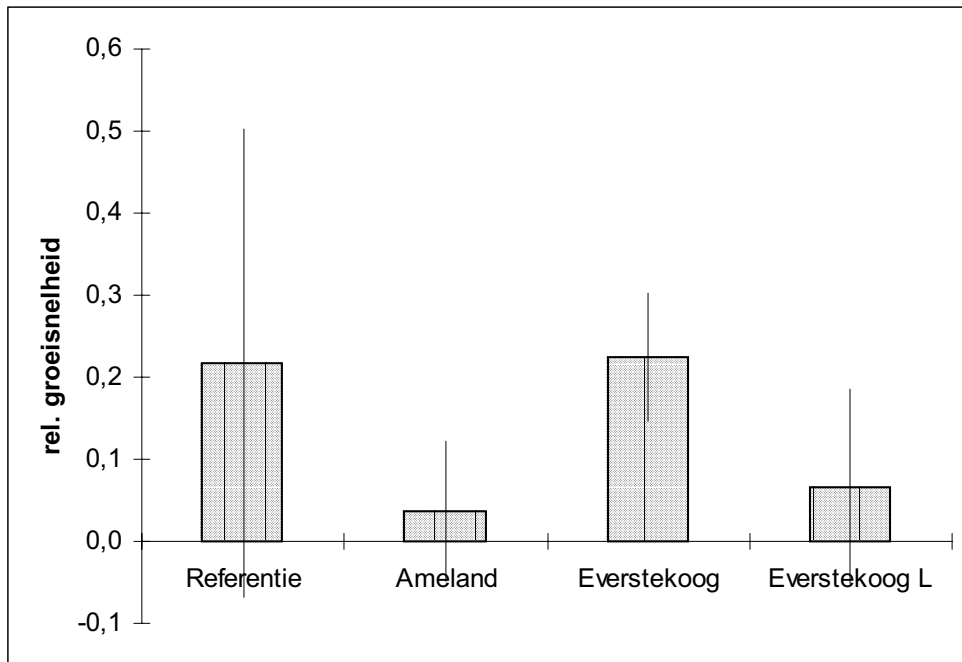
De algen kwamen in het effluent van Ameland niet tot ontwikkeling (Figuur 9). Dit was ook het geval in het beluchte Eversteekoog effluent, hetgeen opvallend is omdat er in het onbehandelde effluent van dezelfde rwzi wel algenontwikkeling mogelijk bleek. De ongunstige invloed van de beluchting is moeilijk te verklaren, maar geeft in elk geval aan dat een verlengde zuiveringsperiode dit effluent niet beter geschikt maakte voor algengroei.

Overigens moet bij de beschouwing van deze resultaten worden opgemerkt dat de algengroei-snelheid in het referentie medium ook beduidend lager lag (Figuur 10) dan tijdens de voorgaande test series. Blijkbaar bevonden de algen zich op het moment van deze test in een mindere conditie.

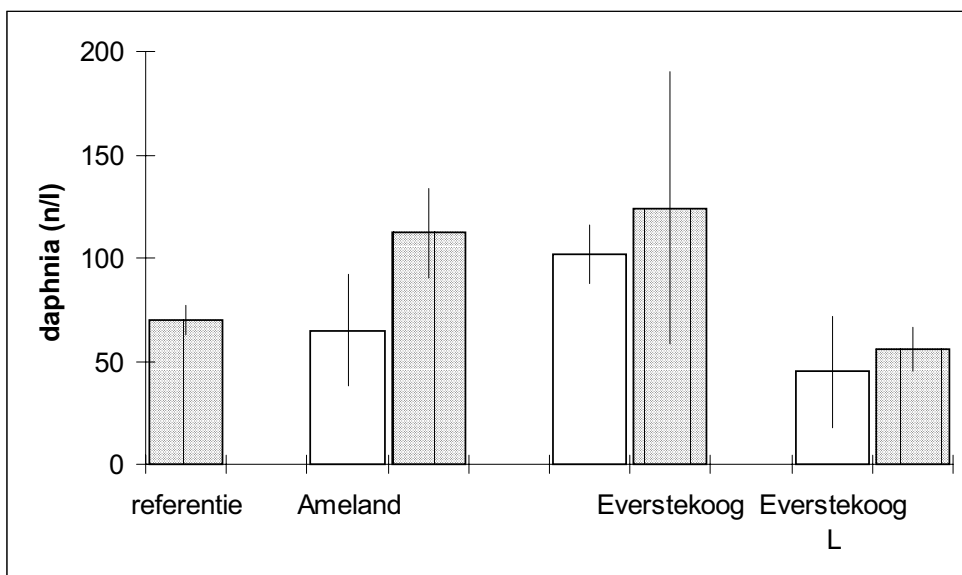
De watervlooiendichtheden in de referentie aan het eind van de studie bleken relatief hoog (Figuur 11) in vergelijking met de eerdere testseries. In het effluent van Ameland en het onbehandelde effluent van rwzi Eversteekoog werden hogere watervlo dichtheden gemeten, dan in de referentie. Dit was niet het geval in de vaten met het behandelde Eversteekoog effluent, waar de aantallen vergelijkbaar waren met die in de referentie. In alle effluenten had de toevoeging van de algen een gunstig effect op de watervlooiendichtheden.



Figuur 9 Ontwikkeling van de algenbiomassa (uitgedrukt als Chlorofyl-a) in het effluent van rwzi Ameland en Eversteekoog. Het effluent van Eversteekoog werd twee maal ingezet: eenmaal na standaard overnachting in een afgesloten vat en eenmaal na krachtige beluchting gedurende de nacht (Eversteekoog L). De verschillende behandelingen worden beschreven in de tekst.



Figuur 10 Relatieve groeisnelheid van algen in de effluenten tijdens de derde testserie. Weergegeven is de testsituatie 'Alg'.



Figuur 11 Aantallen waterblooien per liter in de rwzi-effluenten aan het eind van de derde test serie. De witte kolumnen vertegenwoordigen de resultaten uit de testsituatie 'Daphnia' de grijze kolumnen de testsituatie 'Alg & Daphnia'.

3.3.4 Chemische analyses

In de geanalyseerde effluenten werden totaal gehalten van zink, koper, kwik, nikkel en lood in een aantal gevallen boven de detectielimiet aangetroffen (Tabel 21). De absolute gehalten van deze metalen weken nauwelijks af van wat op grond van de literatuur gegevens kon worden verwacht. Een uitzondering hierop werd gevormd door het effluent van rwzi Bosscherveld dat opvallend hoge zink- en chroomgehalten bleek te bevatten en waar ook het hoogste loodgehalte in werd vastgesteld. De metaalgehalten in het effluent van de rwzi's Land van Cuijk en Tilburg kwamen in grote lijnen met elkaar overeen, met iets hogere gehalten bij rwzi Land van Cuijk. In het effluent van rwzi Kaatsheuvel konden alleen zink en kwik nog worden aangetoond. De effluenten met de minste zware metalen werden verzameld op de waddeneilanden Texel (rwzi Eversteakoog) en Ameland.

Alleen in het geval van koper en zink werd de MTR-waarde (zie Tabel 4) overschreden. Voor zink was dit het geval bij de rwzi's Bosscherveld, Land van Cuijk en Tilburg. Voor koper (in elk geval) in de effluenten van rwzi's Land van Cuijk en Tilburg.

Tabel 21 Gehalten van acht metalen ($\mu\text{g/l}$) in het effluent van de vijf rwzi's die in de 2e en 3e serie test werden onderzocht. Kwik en arseen werd niet geanalyseerd in het effluent van rwzi Bosscherveld.

$\mu\text{g/l}$	Bosscherveld	Tilburg	Cuijk	Kaatsheuvel	Ameland	Eversteakoog
Zink	260	53	84	22	<20	<20
Kwik	n.g.	0.02	0.03	0.02	0.03	<0.02
Koper	<10	6	12	<5	<5	<5
Lood	5	3	3	<1	<1	<1
Nikkel	<10	9	7	<5	<5	<5
Arseen	n.g.	<11	<11	<11	<11	<11
Cadmium	<1	<0.5	<0.5	<0.5	<0.5	<0.5
Chroom	15	<5	<5	<5	<5	<5

De concentratie van potentieel bioaccumulerende stoffen lagen voor de verschillende effluenten dicht bij elkaar. Er bestaat nog geen schaal voor de kwalificering van de resultaten van de meetmethode van het bioaccumulerend potentieel. De laagste waarde werd aangetoond in het effluent van rwzi Bosscherveld en was ca. twee maal hoger dan de referentie (Markermeer). In de overige effluenten werd een waarde gevonden die drie tot vier maal hoger lag dan de referentie. Deze waarden kunnen worden beschouwd als aanwijzing voor matig potentieel tot bioaccumulatie (pers comm. P. Leonarts, RIVO). In geen van de gevallen is sprake van een hoog potentieel tot bioaccumulatie (Cfiber >3 mM).

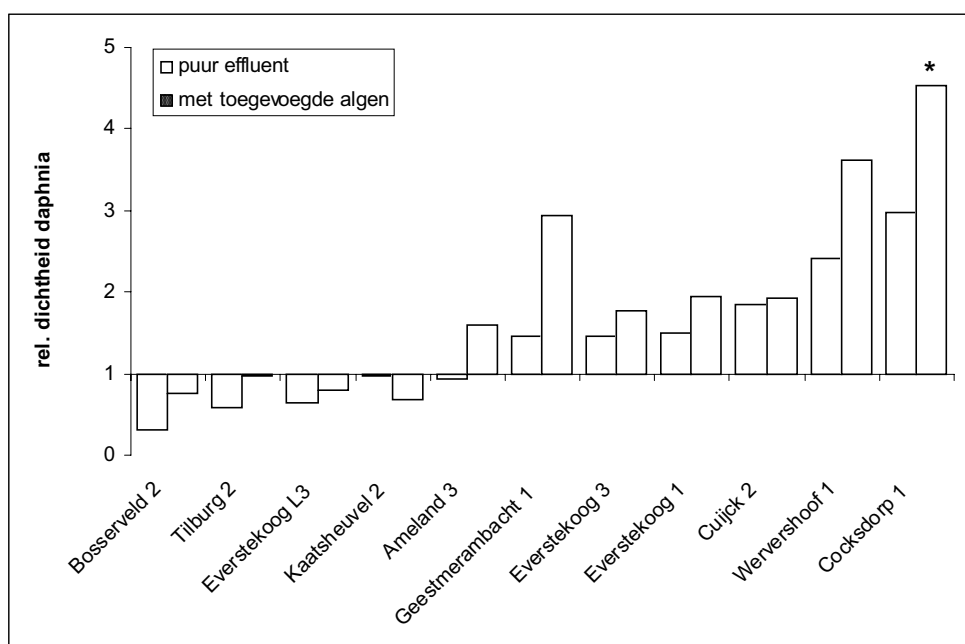
Tabel 22 Concentratie van potentieel bioaccumulerende stoffen in de rwzi-effluenten, gemeten met PDMS fiber. Gemiddelden en standaard deviatie (n=3). Als referentie werd Markermeer water gebruikt.

	Cfiber
Referentie (Markermeer water)	0.46 \pm 0.12 mM
Bosscherveld	0.97 \pm 0.21 mM
Tilburg	1.39 \pm 0.20 mM
Cuijk	1.72 \pm 0.69 mM
Kaatsheuvel	1.62 \pm 0.50 mM
Ameland	1.50 \pm 0.10 mM
Eversteakoog	1.29 \pm 0.18 mM

3.4 Discussie experimentele resultaten

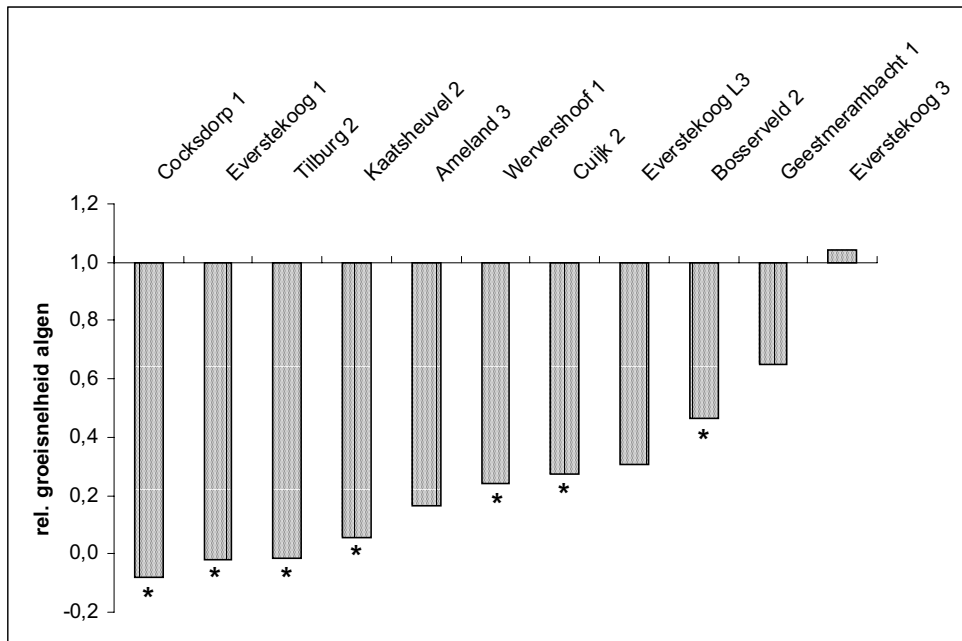
Watervlooien bleken over het algemeen goed te gedijen op het effluent van de onderzochte rwzi's. In meer dan de helft van de geteste effluënten ontwikkelden de watervlooien zich in het pure effluent zelfs sterker dan in het referentie medium (Figuur 12). Duidelijke negatieve ontwikkelingen werden niet gevonden, ook niet in het pure effluent waar geen extra voedsel (algen) aan was toegevoegd. Hieruit kan geconcludeerd worden dat het pure effluent voldoende geschikte voedseldeeltjes bevatte en geen stoffen die de ontwikkeling van de watervlooien nadelig beïnvloedde.

Dat de toevoeging van algen tot hogere watervlooien dichtheden leidde, is waarschijnlijk te verklaren doordat de toegevoegde algen als aanvullende voedselbron dienden. Dit was zelfs het geval in situaties waarin de algen zelf niet tot ontwikkeling konden komen. Ook het pure effluent (dus zonder extra algen) bleek in de meeste gevallen voldoende voedingsstoffen te bevatten om de ontwikkeling van watervlooien mogelijk te maken. Een uitzondering hierop werd gevormd door het effluent van rwzi Bosscherveld, waar de ontwikkeling van de watervlooien achterbleef bij de referentie. Door toevoeging van de algen werd dit verschil echter vrijwel opgeheven.



Figuur 12 Daphnia dichtheden aan het eind van de testen weergegeven als de fractie van de dichtheid in de referentie situatie. Een waarde op de y-as van '1' geeft aan dat de dichtheden in het effluent gelijk waren aan de referentie. Lagere en hogere waarden geven respectievelijk lagere en hogere dichtheden in het effluent aan. De getallen achter de rwzi aanduiding op de x-as refereren naar de test serie waarin dit effluent werd getest. De rwzi's zijn gerangschikt op het ontwikkelingssucces van de watervlooien in het pure effluent. '**' geeft aan dat de waarden significant ($p < 0.05$) afwijken van de referentie

De ontwikkeling van de algen was in veel van de effluënten niet optimaal en bleef soms zelfs geheel achterwege (Figuur 13). Slechts in een geval was de algenontwikkeling in het effluent vergelijkbaar met de referentie situatie (Eversteekoo 3, september 2002). Opvallend hierbij is dat de algen tijdens de eerste testserie in effluent van dezelfde rwzi geen enkele ontwikkeling te zien gaven (Eversteekoo 1, oktober 2001). Dit geeft duidelijk aan dat de effluentkwaliteit van een rwzi geen vast gegeven is, maar sterk kan variëren in de tijd. Alle in dit rapport beschreven testresultaten moeten dan ook gezien worden als een moment opname.



Figuur 13 Algen groeiselheid in de testen weergegeven als de fractie van de dichtheid in de referentie situatie. Een waarde op de y-as die kleiner is dan 1 duidt op een lagere groeiselheid in het effluent dan in het referentie medium. Waarden kleiner of gelijk aan 0 geven aan dat hier geen algenontwikkeling plaats vond. De getallen achter de rwzi aanduiding op de x-as refereren naar de test serie waarin dit effluent werd getest. De rwzi's zijn gerangschikt op algengroeiselheid. '*' geeft aan dat de waarden significant ($p < 0.05$) afwijken van de referentie

Onder de aangetoonde metaalgehalten in het effluent bevonden zich geen waarden die de ontwikkeling van de watervlooiën had kunnen schaden of die de slechte ontwikkeling van de algen kon verklaren. Er bestaat dan ook geen correlatie tussen de waargenomen effecten en de resultaten van de chemische analyses. Opvallend is wel dat de meest slechte watervlooiënontwikkeling werd vastgesteld in het effluent met de hoogste zink en chroom gehalten (Bosscherveld). De algenontwikkeling was hierin echter niet slechter dan in de andere geteste effluënten.

Mogelijk is de slechte ontwikkeling van de algen het gevolg van de aanwezigheid van niet geanalyseerde stoffen zoals bestrijdingsmiddelen of van een ongunstige (ionen)samenstelling van het effluent. Alle effluënten waren helder, zodat licht geen beperkende rol gespeeld kan hebben bij de algenontwikkeling.

Alleen bij rwzi de Cocksdoorp worden geen poly-electrolyten gebruikt voor de slibontwatering. Aangenomen mag dan ook worden dat het mogelijk giftige bijproduct hydroxypropionitril in de effluënten van alle andere geteste effluënten aanwezig is geweest. In de experimenten werden in het effluent van rwzi de Cocksdoorp de (relatief) laagste algen groeiselheden en de hoogste Daphnia dichtheden gevonden. Met zekerheid kan dan ook gezegd worden dat de algenontwikkeling niet negatief werd beïnvloed door het gebruik van de poly-electrolyten (en de bijkomende bijproducten).

In de geteste effluënten werd de potentie tot bioaccumulatie vastgesteld, zonder dat grote verschillen tussen de verschillende rwzi's geconstateerd werden. Door het ontbreken van een duidelijke (en geaccepteerde) maatlat voor is het moeilijk de consequentie van deze resultaten vast te stellen. De verantwoordelijke onderzoeker omschreef de potentie van de effluënten als 'matig'. Vast staat dat in alle effluënten de potentie voor bioaccumulatie is aangetoond. Bij de gebruikte analysemethode worden alle lipofiele stoffen uit het effluent geëxtraheerd. Hieronder bevinden zich ook niet persistente stoffen die eenvoudig door een organisme kunnen worden afgebroken en uitgescheiden, waardoor zij in de praktijk niet in de voedselketen

accumuleren. Het vastgestelde potentieel tot bioaccumulatie kan dan ook worden gezien als een overschatting van de werkelijke situatie. De gevonden gehalten zeggen niets over het risico van ophoping in de voedselketen (biomagnificatie).

4 Discussie en conclusies

4.1 Is effluentkwaliteit een beperkende factor voor nabehandeling door biomassakweek

Algen ontwikkelen zich in het algemeen slecht in rwzi-effluenten. Dit blijkt uit een inventarisatie van toxiciteitstesten met effluent en wordt bevestigd door de uitgevoerde eco-assays waarbij de algenontwikkeling in vrijwel alle effluenten geremd bleek. In drie van de elf geteste effluenten bleef ontwikkeling van de algen zelfs geheel achterwege. De oorzaak hiervoor is vaak onduidelijk. Het is dan ook waarschijnlijk niet haalbaar om te trachten nabehandeling van effluenten met behulp van een ‘algengenerator’ te bewerkstelligen. Hoewel door een algengenerator de efficiëntie van de nabehandeling wellicht kan worden verbeterd omdat hiermee ook opgeloste nutriënten worden verwijderd, is deze stap niet noodzakelijk voor het slagen van ‘kwekelbaarsachtige systemen’, waarbij watervlooiën direct op het effluent gekweekt worden. Voor watervlooiën leveren de effluenten van Nederlandse rwzi’s namelijk geen nadelige effecten op, waardoor watervlooiënkweek als nabehandelingstechniek breed kan worden toegepast.

Een belangrijke onzekerheid bij deze vorm van ‘biologische’ nabehandeling is wel dat de kwaliteit van het effluent van een rwzi niet constant is, hetgeen kan leiden tot fluctuaties in het succes van de biomassakweek. Dit werd bevestigd tijdens de grootschalige en langdurige kweekexperimenten bij rwzi Eversteekooop op Texel in de jaren 2001 en 2002 (Foekema & Kampf, 2002). Een belangrijk deel van de fluctuaties was te verklaren als het gevolg van overbelasting van de rwzi tijdens het toeristenseizoen.

Meer inzicht in de aspecten die de kwaliteit van het rwzi-effluent bepalen, zoals de kwaliteit en het debiet van het aangeboden afvalwater (mogelijk in combinatie met het controleren van specifieke afvalwaterbronnen) zal kunnen leiden tot meer stabiele kweekomstandigheden.

4.2 Aanbevelingen voor de “waterharmonica”

De “waterharmonica”, moet een semi-natuurlijke overgang vormen tussen het effluent uit de rwzi en het oppervlaktewater (Kampf, 2003). Vanuit het oogpunt van bescherming van het ontvangende oppervlaktewater zou de “harmonica” zo ingericht moeten worden dat oorzaak van de toxiciteit voor de algen verdwijnt. Omdat de oorzaak van de slechte algenontwikkeling op effluent niet duidelijk is, kan er namelijk moeilijk op rwzi-technische (bijv. pH, ammonium) of brongerichte maatregelen (bijv. metalen, pesticiden) worden gestuurd. Mogelijk worden de slechte omstandigheden voor algen al in de huidige helofytenfilters opgeheven. Dit is niet getest.

De concentratie van potentieel bioaccumulerende stoffen in de onderzochte effluenten geeft aan dat het raadzaam is om bij de vorming van natuurlijke ‘kunstmatige natuur’ met behulp van rwzi-effluent alert te zijn op bioaccumulatie van stoffen in de voedselketen. Recent onderzoek geeft aan dat er geen verschil bestaat tussen de potentie tot bioaccumulatie van effluent van communale en industriële zuiveringen (pers comm. E. Roex, RIZA).

Ook het risico van stoffen met een hormoonverstorende werking en de invloed van pathogene micro-organismen op hogere organismen (vissen, vogels) die direct met het niet nabehandelde effluent in contact komen verdient aandacht. Door de inzet van een helofyten filter kan het risico van pathogene micro-organismen wellicht sterk worden teruggebracht. Het onderzoek naar hormoonverstorende stoffen staat nog in de kinderschoenen.

Omdat de potentie tot het ontstaan van bovengenoemde risico’s tussen verschillende rwzi’s sterk kan variëren, en er bij eenmalige monsternamen slechts sprake is van een momentopname, zal dit per locatie gemonitord moeten worden.

4.3 Implicaties voor oppervlaktewater

In Nederland loost 75% van de ruim 400 rwzi's effluent op (relatief kleine) regionale wateren. Op kleine wateren bedraagt de verdunningsfactor soms minder dan 10, zodat de effluentlozing een sterk bepalende factor voor de waterkwaliteit in deze wateren vormt. Aantoonbare invloed van rwzi-effluenten op oppervlaktewater wordt dan ook niet uitgesloten (Tonkes *et al.*, 2000). Omdat in een zuiveringsmoeras en in een kweekvijver met watervlooien geen verdunning van het effluent (behoudens door regen) zal optreden, zal de situatie hier extremer zijn dan in een ontvangend 'natuurlijk' watersysteem waar altijd van enige verdunning sprake is. Toch kunnen de geconstateerde effecten op algen van belang zijn voor het ecosysteem van het oppervlaktewater. De normale voedselkringloop waarbij nutriënten worden omgezet in algen die worden gegeten door watervlooien zou door de effecten op de algen kunnen worden doorbroken.

De watervlooienpopulatie zal als voedselbron de bacteriën uit het effluent aanwenden, terwijl de niet door de algen benutte nutriënten zich kunnen ophopen in het systeem en op termijn kunnen leiden tot de bloei van minder gevoelige algen of flab.

In de praktijk is in het ontvangend oppervlaktewater echter nog nauwelijks onderzoek gedaan naar de ecotoxicologische effecten van de lozing van rwzi-effluenten. In Nederland is hierover één onderzoek gerapporteerd. Daarbij werden geen acute, maar wel chronische toxische effecten geconstateerd in de waterbodem en werden geen responsen gevonden in toxiciteitstesten met het ontvangende oppervlaktewater (Berbee *et al.*, 2000).

Wel is duidelijk dat het risico op toxische effecten van rwzi effluenten toeneemt als er sprake is van overbelasting van de rwzi. Mogelijk zou deze toxiciteit geneutraliseerd kunnen worden door een moerassysteem. Dit aspect van zuiveringsmoerassen is echter nog niet onderzocht.

4.4 Onzekerheden en vervolgonderzoek

Onzekerheden blijven bestaan over het risico van bioaccumulatie en hormoonverstorende stoffen. Omdat de samenstelling van rwzi-effluenten in de tijd en per rwzi sterk varieert zijn deze onzekerheden niet met een algemeen onderzoek weg te nemen. Hiervoor is gericht locatiespecifiek onderzoek noodzakelijk.

Onduidelijkheid blijft ook bestaan over de oorzaak van de slechte algen-ontwikkeling in de effluenten. De over het algemeen geringe spreiding tussen de waarnemingen in de replica's geeft aan dat deze waarnemingen niet op toeval berusten, hetgeen ook wordt bevestigd door de statistische toetsing.

Naast de aanwezigheid van metalen of specifieke toxicanten zoals herbiciden kan ook de samenstelling van het effluent een belangrijke rol spelen in de ontwikkeling van de algen. In elk geval maakt de slechte algenontwikkeling duidelijk dat effluent geen oppervlaktewater is. Interessant is de vraag in hoeverre nabehandeling met bijvoorbeeld een helofytenfilter en/of een bassin met water-vlooien een positieve invloed heeft op de geschiktheid van het effluent voor algenontwikkeling.

De planktonecoassay is een relatief eenvoudige en geschikte methode om een indruk te krijgen van de biologische kwaliteit van een effluent. Deze methode kan goed worden ingezet om de effluentkwaliteit voor en na een helofytenfilter te vergelijken of om fluctuaties in effluentkwaliteit in de tijd te volgen.

5 Referenties

- Baltus C.A.M. (2001): Acuu toxiciteitsonderzoek aan effluenten uitgevoerd door regionale waterkwaliteitsbeheerders. Rapportage van praktijkervaringen. STOWA-rapport 2001-03/RIZA rapport 2001.001.
- Barron M.G., C. Nardo & J.J. Yurk (1996): Bioavailability of PCBs in channel katfish exposed to a treated municipal effluent. *Environmental Technology*. Vol. 17, pp. 557-560.
- Berbee R.P.M. *et al* (2000): Ecotoxicologisch en chemisch onderzoek RWZI Aarle Rixtel (Helmond) en watergang de Aa. Gezamenlijk rapport van RIZA, Waterschap de Aa en de GTD Oost-Brabant. RIZA-rapport 2000.022.
- Bowmer C.T., R.N. Hooftman, A.O. Hanstveit, P.W.M. Venderbosch, & N. Van der Hoeven (1998): The Ecotoxicity and the Biodegradability of Lactic Acid, Alkyl Lactate Esters and Lactate Salts. *Chemosphere* 37(7):1317-1333.
- Breedveld L.W. & M. van Loon (1997): Watergedragen polymeren: een probleem voor het aquatisch milieu? *H₂O* (30) nr. 21.
- Bruin J. de, T. Crommentuijn, K. van Leeuwen, E. van der Plassche, D. Sijm & M. van der Weiden (1999): Environmental Risk limits in the Netherlands. RIVM rapport No. 601640001.
- Chen C.Y., K.C. Lin & D.T. Yang (1997): Comparison of the relative toxicity relationships based on batch and continuous algal toxicity tests. *Chemosphere* 35(9):1959-1965.
- Cocheret de la Moriniere E. (1996): Ecologische Risico's van surfactants. TNO-MEP verslag DH96/021.
- Enserink E.L., M.J.J. Kerkhofs, C.A.M. Baltus & J.H. Koeman (1995): Influence of food quality and lead exposure on maturation in *Daphnid magna*. Evidence for a trade-off mechanism. *Funct. Ecol.* 9(2):175-185.
- Feijtel T.C.J. & E.J. van de Plassche (1995): Environmental risk characterization of 4 major surfactants used in the Netherlands. RIVM report no. 679101025.
- Foekema E.M. & R. Kampf (2002): Gebruik van effluent van de rwzi de Cocksdoorp voor natuurdoeleinden: Onderzoek naar de kweek van watervlooiën in het kwekelbaarsjes systeem. TNO-MEP verslag DH02/007.
- Gibbs P.J. & A.G. Miskiewicz (1995): Heavy metals in fish near a major primary treatment sewage plant outfall. *Marine Polluton Bulletin*, volume 30, no. 10 pp. 667-674.
- Gommers P. (1997): Inventarisatie van kwik in influenten en effluenten van rioolwaterzuiveringsinstallaties. Peiljaar 1993. RIZA-werkdocument 97-128X.
- Gommers P. & J. Rienks (1999): 'Gezuiverde' cijfers over zuiveren. Concentraties, vrachten en zuiveringsrendementen van de stoffen arseen, cadmium, chroom, koper, kwik, nikkel, lood, zink en EOX en PAK's in rioolwaterzuiveringsinrichtingen in Nederland. RIZA-rapport 99.018
- Graaf P.J.F. de, J. Graansma, E.V. ten Kate, M. Tonkes & J.L. Maas (2000): Toetsing van voorlopige handreiking Toepassing Acute Toxiciteitstesten. Resultaten van landelijk onderzoek. FWVO-nota 00.03.
- Groot M. (1998): Effluent en de hevel-vispassage. Een helofytenfilter bij rioolwaterzuiveringsinstallatie De Cocksdoorp op Texel? TNO studentenverslag.
- Halling-Sørensen B., S. Nors Nielsen, P.F. Lanzky, F. Ingersiev, H.C. Holten Lützhøft & S.E. Jørgenen (1997): Occurrence, fate and effects of Pharmaceutical substances in the environment – A review.
- Heever J.A. van der & J.U. Grobbelaar (1996): The use of *Selenastrum capricornutum* growth potential as a measure of toxicity of a few selected compounds. *Water S.A.* 22(2):183-191.
- Jak R.G., R. Kampf, E.M. Foekema & H.P. van Dokkum (2000): Haalbaarheid en mogelijkheden van het gebruik van effluent van rwzi De Cocksdoorp voor natuurdoeleinden. TNO-rapport: TNO-MEP –R 2000/138.
- Jongbloed R.H., J.H.J. Hulskotte & C. Kempenaar (2002): Bestrijdingsmiddelen in stroomgebieden en gronwaterbeschermingsgebieden in de provincie Utrecht. Berekeningen voor landbouw- en niet-landbouwtoepassingen vanuit diffuse bronnen. TNO-rapport.TNO-MEP-R 2002/277.

- Kampf R. (2003): De waterharmonica tussen afvalwaterketen en oppervlaktewater: van effluent tot bruikbaar oppervlaktewater. PAO cursus Effluent van de toekomst, 22, 23 en 24 januari 2003. Stichting Postacademisch Onderwijs, Delft.
- Kampf R., M. Schreijer, S. Toet, J.T.A. Verhoeven, R.G. Jak & M.Groot (1998): From sewage water to (re)usable surface water. The use of as full-scale constructed wetland to improve the quality of the effluent from an oxidation ditch in the Netherlands. Int. Conf. on Environment and Agriculture, Nov 1-3, Katmandu, Nepal.
- Lewis M.A. (1994): Chronic toxicities of surfactants and detergent builders to algae: A review and risk assessment. *Ecotoxicol. Environ. Saf.* 20:123-140.
- Linders J.B.H.J., J.W. Jansma, B.J.W.G. Mensink & K. Otermann (2000): Pesticides: Benefaction or Pandora's box? A synopsis of the environmental aspects of 243 pesticides. RIVM report No. 679101014.
- Maagd G.J. de (2000): Bioaccumulation tests applied in whole effluent assessment: a review. *Environmental Toxicology and Chemistry*. Vol. 19, no1, pp 25-35.
- Maagd G.J. de (2002): Protocol analyse oppervlaktewater met polyacrylaat fiber – solid phase micro extraction. RIZA.
- Ministerie van Verkeer en Waterstaat (2002): Hormoon ontregeling boven water. LOES Het Landelijk Onderzoek oestrogene stoffen in beeld.
- McLean C., A.G. Miskiewicz & E.A. Roberts (1991): Effect of three primary treatment sewage outfalls on metal concentrations in the fish *Cheilodactylus fuscus* collected along the coast of Sydney, Australia. *Marine Pollution Bulletin*, volume 22, no.3, pp. 134-140.
- OECD (1984): Guideline for testing of chemicals 201. "Alga, Growth inhibition Test". Organisation for Economic Co-operation and Development.
- Office of Pesticide Programs (2000): Environmental Effects Database (EEDB). Environmental Fate and Effects Division, U.S.EPA, Washington, D.C.
- Okkerman P.C., C.P. Groshart & A.M.C.M. Pijnenburg (2001): Chemical study on estrogens. Report RIKZ/2001.028.
- Rienks J., C.M. Baas, P. Gommers (1997): Microverontreinigingen in (gezuiverd) stedelijk afvalwater: de feiten op basis van metingen door beheerders van rwzi's uitgewerkt voor de zware metalen koper, zink en kwik. *H₂O* 30, nr22 pp. 676-681.
- STOWA (1995): Onderzoek naar de milieubezwaarlijkheid van polyelectrolyten in rwzi's. STOWA-rapport 1995-17
STOWA (1997): Bestrijdingsmiddelen in communaal afvalwater. STOWA-rapport 1997-15.
- STOWA (2001): Compendium rwzi-effluent als bron voor "ander water". STOWA-rapport 2001-14.
- STOWA (2001)a: Koper in Nederlandse oppervlaktewateren. Toxiciteit in relatie tot organisch materiaal. STOWA-rapport 2001-06.
- Schreijer M. & Kampf R. (2000): Nabehandeling van RWZI-effluent tot bruikbaar oppervlaktewater in moerassysteem 1995-1999. Uitgave Hoogheemraadschap van Uitwaterende sluisen in Hollands Noorderkwartier.
- Suedel, B.C., and J.H. Rodgers Jr. (1996): Toxicity of Fluoranthene to *Daphnia magna*, *Hyalella azteca*, *Chironomus tentans*, and *Stylaria lacustris* in Water-Only and Whole Sediment Exposures. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.* 57(1):132-138.
- Sweet L.I., D.F. Travers & P.G. Meier (1997): Chronic toxicity evaluation of wastewater treatment plant effluents with bioluminescent bacteria: a comparison with invertebrates and fish. *Environmental toxicology and Chemistry*, Vol. 16, No. 10 pp 2187-2189.
- Tomlin C. (ed.) (1995): The pesticide manual.: British Crop Protection Council & Royal Society of Chemistry, UK. 12th ed.
- Tonkes M. & C.A.M. Baltus (1997): Praktijkonderzoek aan complexe effluenten met de Totaal-effluent Milieubezwaarlijkheid (TEM)-Methodiek. Resultaat van 10 complexe effluenten. RIZA-rapport 97.033/SPA-rapport 97.003.

Tonkes M., G.B.J. Rijs, F.H. Wagemaker & C. Baltus (2000): Totaal-effluentbeoordeling bij rwzi's. Literatuurstudie naar de toepassing van ecotoxicologische testmethoden bij totaal-effluentbeoordeling van rwzi-effluenten. RIZA-rapport: 2000.055.

Trucco R.G., F.R. Engelhardt & B. Stacey (1983): Toxicity, Accumulation and Clearance of aromatic Hydrocarbons in *Daphnia pulex*. Environmental Pollution (Series A) 31: pp 191-202.

Uitwaterende Sluizen (2001): Milieujarverslag afvalwaterketenbedrijf 2000

Verbruggen E.M.J., W.H.J. Vaes, T.F. Parkerton and J.L.M. Hermens. 2000. Polyacrylate coated SPME fibers as a tool to simulate body residues and target concentrations of complex organic mixtures for estimation of baseline toxicity. Environ. Science Technol. 34 (2), 324-331.

Vethaak A.D., G.B.J. Rijs, S.M. Schrap, H. Ruiter, A. Gerritsen & J. Lahr (2002): Estrogens and xeno-estrogens in the aquatic environment of the Netherlands. Occurrence, Potency and Biological effects RIZA/RIKZ-report no.2002.001.

Weltens R., R. Goossens, S. van Puymbroeck (2000): Ecotoxicity of contaminated suspended solids for filter feeders (*Daphnia magna*). Arch. Environ. Contam. Toxicol. 39, 315-323.

Wernersson, A.S. & G. Dave (1997): Phototoxicity Identification by Solid Phase Extraction and Photoinduced Toxicity to *Daphnia magna*. Arch. Environ. Contam. Toxicol. 32(3):268-273.

Wiegman W. (2001): Waterschap Groot Salland beoordeelt effluent rwzi met Toxbox. H₂O, 34 (17):pp. 16-18.

6 Verantwoording

Naam en adres van de opdrachtgever:

STOWA
B. Palsma
Postbus 8090
3503 RB Utrecht

Namen en functies van de projectmedewerkers:

E.M. Foekema	Projectleider
V.G. Blankendaal	Projectmedewerker
P.C. Goedhart	Project medewerker
G. Hoornsman	Project medewerker

Samenstelling begeleidingscommissie:

B. Palsma	STOWA
T. Claassen	Wetterskip Fryslân
R. Kampf	HH Hollands Noorderkwartier
W. Wiegman	Waterschap Groot Salland
C. Baltus/E. Roex	RIZA
H.P. van Dokkum	TNO
A. Weber	TNO

Datum waarop, of tijdsbestek waarin, het onderzoek heeft plaatsgehad:

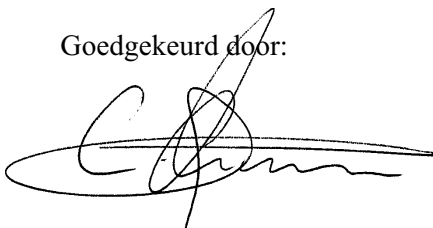
Juli 2001 – maart 2003

Ondertekening:



E.M. Foekema
Projectleider
1 april 2003

Goedgekeurd door:



C.C. Karman
Afdelingshoofd
1 april 2003

Bijlage 1 verklarende lijst met gebruikte termen en afkortingen

- BCF: Bioaccumulatiefactor; Een maat voor het bioaccumulerend vermogen van een stof. In aquatische ecotoxicologie doorgaans uitgedrukt als de verhouding tussen de concentratie van deze stof in het water en in het weefsel van het in dit water blootgestelde testorganisme. Hoe hoger de BCF des te sterker het bioaccumulerend vermogen van de stof.
- EC₅₀: (EC=Effect Concentration) De concentratie van een stof (of effluent) waarbij 50% van de blootgestelde individuen effecten ondervond. Hoe lager de EC₅₀ hoe giftiger de stof.
- FWVO: Functionele Werkgroep Verontreiniging Oppervlaktewater, waarin alle directies van Rijkswaterstaat zijn vertegenwoordigd.
- LC₅₀: (LC=Lethal Concentration) De concentratie van een stof (of effluent) waarbij 50% van de blootgestelde individuen van een soort stierf. Hoe lager de LC₅₀ hoe giftiger de stof.
- LOEC : Lowest Observed Effect Concentration; De laagste concentratie waarbij in een toxiciteitstest een significant effect werd waargenomen.
- Lipofiel: Letterlijk 'Vetminnend'. Lipofiele stoffen zijn stoffen met een hoge affiniteit voor vetten, waardoor deze stoffen zich in principe kunnen ophopen in het vet van organismen. Persistentie lipofiele stoffen zoals PCB's hebben een sterke neiging tot bioaccumulatie.
- MTR: Maximaal Toelaatbaar Risico; op basis van toxiciteitsgegevens wordt voor een stof een MTR berekend. Dit is de maximale concentratie waarbij van deze stof nog geen negatieve effecten op het milieu worden verwacht. Bij de berekening van een MTR worden 'voor de zekerheid' veiligheidsfactoren meegenomen. Naarmate er meer onzekerheid bestaat over de beschikbare dataset wordt een grotere veiligheidsfactor toegepast
- NOEC: No Observed Effect Concentration; De hoogste concentratie waarbij in een toxiciteitstest geen significant effect werd waargenomen.
- Rwzi: Rioolwaterzuiveringsinstallatie