



Briefrapport 607013007/2008

A.C. de Groot | M.J. Wouterse | E.M. Dirven | J.L. Maas | E.van der Grinten

Bepaling van de toxische druk in het oppervlaktewater in 2006

RIVM Briefrapport 607013007/2008

Bepaling van de toxische druk in het oppervlaktewater in 2006

A.C. de Groot, RIVM
M.J. Wouterse, RIVM
E.M. Dirven, RIVM
J.L. Maas, Waterdienst
E.v.d. Grinten, RIVM

Contact:
E. van der Grinten
LER
E.van.der.Grinten@rivm.nl

Dit onderzoek werd verricht in opdracht van VROM, in het kader van MAP project M/607013, ontwikkeling en toepassing bioassays.

© RIVM 2008

Delen uit deze publicatie mogen worden overgenomen op voorwaarde van bronvermelding: 'Rijksinstituut voor Volksgezondheid en Milieu (RIVM), de titel van de publicatie en het jaar van uitgave'.

Rapport in het kort

De bepaling van toxische druk Rijkswateren 2006

Het RIVM heeft in 2006 het oppervlaktewater in Nederland onderzocht op de aanwezigheid van toxische stoffen. Hiervoor zijn op vijf locaties verspreid over het land metingen verricht. Het oppervlaktewater uit het kanaal Terneuzen - Gent (Sas Van Gent) bleek in 2006 een bijzonder hoge potentiële toxiciteit te hebben (eind april > 10 %). Welke stof/stoffen deze toxiciteit veroorzaakten is onbekend.

Met de meetresultaten zijn de mogelijke risico's voor een ecosysteem berekend (potentiële toxiciteit). Het gaat hierbij om de gezamenlijke werking van de aanwezige stoffen. De stoffen afzonderlijk zijn namelijk in een te lage concentratie aanwezig om te kunnen meten.

De stoffen worden uit het water gehaald door ze te laten hechten aan bolletjes hars. Vervolgens worden ze weer losgemaakt, waarna een concentraat van de giftige stoffen ontstaat. Op dit mengsel zijn vijf testen losgelaten, die het effect van de stoffen op kleine microscopische organismen in water meten: Algentest (algen), Daphnia test (watervlo), Microtox (bacterie), Thamnotox (kreeftachtige) en Rotox (rotifeer).

De metingen zijn uitgevoerd in samenwerking met het Rijksinstituut voor Integraal Zoetwaterbeheer en Afvalwaterbehandeling (RIZA), voor het project 'Ontwikkeling en toepassing van bioassays voor de beoordeling van waterkwaliteit.'

Trefwoorden:

Potentiele toxiciteit, bioassay, oppervlaktewater

Abstract

Toxic potency of surface waters of the Netherlands 2006

In the year 2006, several surface waters were sampled for a toxicity measurement. The work reported here is part of the RIVM research program “Monitoring and diagnosis surface water” and was carried out in cooperation with RIZA.

In this report results of the toxic potency (pT) of five locations in the Netherlands are described. The toxic potency was attributed to organic substances in the surface water.

The organic substances in the water were concentrated by adsorption onto a resin that was sieved out and acetone-eluted. Contaminants were transferred to a (EPA) test medium by Kùderna-Dànish distillation. A set of five toxicity measurements was carried out. These tests are Algae, Microtox, Rotox, Thamnotox, and Daphnia. Results of the toxicity data from five sites were subsequently converted to toxic potency. The general conclusion of the research is that the toxic potency of the location Sas van Gent was the highest of all tested Dutch surface waters in 2006. At the end of april more than 10% of the species were potentially exposed at toxic levels exceeding the No Observed Effect Concentration (NOEC).

Key words:

toxic potency, bioassay

Inhoud

Samenvatting	6	
1	Inleiding	8
1.1	Probleemstelling	8
1.2	Doel van het onderzoek en aanpak	8
1.3	Leeswijzer	9
2	Materiaal en methode	10
2.1	Monstername	10
2.2	Het concentreren van de watermonsters	11
2.3	Kuderna-Dänish (KD)	11
2.4	Toxiciteitbepaling	12
2.5	Berekening potentiële toxiciteit	14
3	Resultaten	16
3.1	Algemeen	16
3.2	Analyses van de toxiciteit	16
3.2.1	Berekening potentiële toxiciteit (pT)	17
3.2.2	Rangordemethodiek	20
4	Discussie	25
5	Conclusie	26
6	Aanbevelingen	27
Referenties	28	
Bijlage	30	

Samenvatting

In 2006, zijn in een vijftal rivieren de toxiciteit van het oppervlaktewater gemeten. De metingen zijn uitgevoerd in samenwerking met het Rijksinstituut voor Integraal Zoetwaterbeheer en Afvalwaterbehandeling (RIZA), voor het project ‘Ontwikkeling en toepassing van bioassays voor de beoordeling van waterkwaliteit.’

De bemonsterde locaties zijn Amsterdam, Eijsden, Lobith, Maassluis en Sas van Gent. Het oppervlaktewater uit het kanaal Terneuzen - Gent (Sas Van Gent) bleek in 2006 een bijzonder hoge potentiële toxiciteit te hebben (eind april > 10 %). Welke stof/stoffen deze toxiciteit veroorzaakten is onbekend.

Met de meetresultaten zijn de mogelijke risico's voor een ecosysteem berekend (potentiële toxiciteit). Het gaat hierbij om de gezamenlijke werking van de aanwezige stoffen. De stoffen afzonderlijk zijn namelijk in een te lage concentratie aanwezig om te kunnen meten.

De stoffen worden uit het water gehaald door ze te laten hechten aan bolletjes hars. Vervolgens worden ze weer losgehaald, waarna een concentraat van de giftige stoffen ontstaat. Op dit mengsel zijn vijf testen losgelaten, die het effect van de stoffen op kleine microscopische organismen in water meten: Algentest (algen), Daphnia test (watervlo), Microtox (bacterie), Thamnotox (kreeftachtige) en Rotox (rotifeer).

1 Inleiding

1.1 Probleemstelling

Mede door toedoen van de mens wordt het milieu gewild of ongewild belast met chemische verontreinigingen (lozingen, depositie, storting en ongelukken). Door de toxische druk van deze chemische verontreinigingen kan het ecosysteem worden aangetast, waardoor flora en/of faunasoorten kunnen verdwijnen terwijl andere hierbij floreren. Door verschuiving van dit evenwicht ontstaat een verschraling van de biodiversiteit of verandering van natuurlijke gemeenschappen. Deze verschuiving van de soortensamenstelling in flora en fauna is te meten. Om subtiele veranderingen van het ecosysteem aan te kunnen tonen, zijn er in het verleden verschillende monitoringsprogramma's opgestart. Eén methode om het aquatisch ecosysteem te monitoren is het analyseren van chemische verontreinigingen in het oppervlaktewater om zo de chemische belasting op het ecosysteem te kunnen diagnosticeren. Een nadeel van deze methodiek is dat op deze manier om economische en analytische redenen slechts een zeer klein gedeelte van de aanwezige toxische stoffen kan worden meegewogen, waardoor het verkregen beeld incompleet is. Een bijkomend probleem van deze wijze van monitoring is, dat slechts voor enkele duizenden verbindingen "iets" van de ecotoxiciteit bekend is, terwijl de lijst van de European Inventory of Existing Commercial Chemical Substances (EINECS) meer dan 100.000 verbindingen omvat. Ook kan met deze methode nauwelijks rekening worden gehouden met een eventuele combinatiewerking. Daardoor is het moeilijk de vertaalslag te maken van chemische druk naar toxische druk.

Om toch een beeld te krijgen van de toxische druk in het aquatische ecosysteem, wordt de toxiciteit van het oppervlaktewater na een concentratie procedure bepaald door het testen van een vijftal functioneel verschillende soorten biota. Hierbij wordt aangenomen, dat deze soorten qua gevoeligheid voor toxische verbindingen in het oppervlaktewater representatief zijn voor de soorten in het aquatische ecosysteem.

Van elk monster worden de resultaten van de vijf toxiciteitstoetsen gebruikt om een gevoeligheidsverdeling van soorten te schatten die model staat voor de in het aquatische ecosysteem aanwezige soorten.

Op basis hiervan wordt geschat in hoeverre soorten een toxische druk hebben ondervonden in het originele, dus niet geconcentreerde watermonster. Deze druk wordt weergegeven als potentieel aangetaste fractie (PAF) van soorten, de fractie van soorten die boven de No Observed Effect Concentration (NOEC) is blootgesteld.

1.2 Doel van het onderzoek en aanpak

In het kader van het project toxische drukmeting Rijkswateren is vanaf 1996 tweemaandelijks de toxiciteit bepaald van diverse oppervlaktewateren. In 2006 werd van de volgende locaties tweemaandelijks de toxiciteit bepaald: Sas van Gent, Maassluis, Amsterdam, Eijsden en Lobith. De toxische druk is een maat waarmee de toxicologische risico's van het oppervlaktewater worden gekwantificeerd in termen van Potentiële Toxiciteit (pT). Meting van de potentiële Toxiciteit (pT) bestaat uit drie onderdelen:

- Een milieuchemisch gedeelte

Fysisch-chemische technieken worden gebruikt om de organische toxicanten uit het oppervlaktewater te isoleren en te concentreren. Concentreren van organische microverontreinigingen uit het oppervlaktewater is nodig omdat het oppervlaktewater bij kortdurende toxiciteitsbepalingen niet toxisch is en om de toxische stress te isoleren van andere stressfactoren (zoals zouten en nutriënten) die aanwezig kunnen zijn in het oppervlaktewater. Nadeel van deze opwerkingstechniek is dat de terugvindbaarheid ca. 60% bedraagt, hiervoor wordt niet gecorrigeerd (Struijs et al., 2001).

- Een ecotoxicologisch gedeelte

Om de toxiciteit van het geconcentreerde oppervlaktewater te bepalen wordt een aantal in vivo-bioassays uitgevoerd. In vivo-bioassays zijn proeven waarin levende organismen worden blootgesteld aan water, sediment, effluent of baggerspecie, of extracten daarvan. Deze testen worden uitgevoerd in het laboratorium. De proeven kunnen kortdurend zijn (van enkele uren tot dagen) waarmee acute effecten kunnen worden vastgesteld, of langdurig (dagen-weken), waarmee chronische effecten (bv op de voortplanting) kunnen worden vastgesteld. Voor de pT-methodiek is om praktische en economische redenen voor kortdurende proeven gekozen.

- Risico berekeningen

De resultaten van de toxiciteitstoetsen worden omgerekend naar een chronische No Observed Effect Concentratie (NOEC) in termen van de nog net niet effectieve concentratiefactor. Hiermee wordt een cumulatieve gevoeligheidsverdeling voor organismen berekend. De resultaten van de risicoschatting worden getoetst aan de voorgestelde normen voor in-vivo bioassays (Maas et al., 2003).

Het onderzoek is verricht in samenwerking met het RIZA, waarbij RIZA de bemonstering van het oppervlaktewater uitvoerde en vier van de vijf toxiciteitstoetsen namelijk: de Daphnia IQ toets, de Thanmotox-toets, de Rotox-toets en de Microtox-toets.

Het oppervlaktewater werd door het RIVM opgewerkt tot waterextracten waarmee de toxiciteitstoetsen werden uitgevoerd. De Algentoets werd uitgevoerd bij het RIVM.

1.3 Leeswijzer

In hoofdstuk 2 worden de gebruikte materialen en methoden beschreven. Daarin wordt uitgelegd hoe het oppervlaktewater 1000 keer wordt geconcentreerd en welke toxiciteitstoetsen worden gebruikt. In hoofdstuk 3 worden de resultaten gegeven en bediscussieerd. De conclusie en aanbevelingen staan respectievelijk beschreven in hoofdstukken 4 en 5.

De referenties staan in hoofdstuk 6.

2 Materiaal en methode

2.1 Monstername

Rijkswaterstaat heeft de tweemaandelijks bemonstering uitgevoerd. Er is een oppervlaktewatermonster genomen van minimaal 80 liter. Het monster (incl. zwevende stof) werd verzameld in roestvrij stalen vaten van 25 liter. Na aflevering bij het RIVM werden de monsters direct in behandeling genomen. In Tabel 1 zijn de bemonsteringslocaties, XY-coördinaten (Figuur 1) en bemonsteringsdata weergegeven.

Tabel 1 Schema met locaties, coördinaten en bemonsteringsdata van 2006.

Monster locatie	X-Y Coördinaten		Datum van bemonstering					
Sas van Gent	44241	359102	3-jan	27-feb	24-apr	19-jun	14-aug	9-okt
Eijsden	177000	310000	17-jan	14-mrt	9-mei	4-jul	29-aug	24-okt
Lobith	203500	429750	18-jan	15-mrt	10-mei	5-jul	30-aug	25-okt
Maassluis	76700	437253	25-jan	22-mrt	17-mei	12-jul	6-sep	1-nov
Amsterdam	122374	488080	26-jan	23-mrt	18-mei	13-jul	7-sep	2-nov

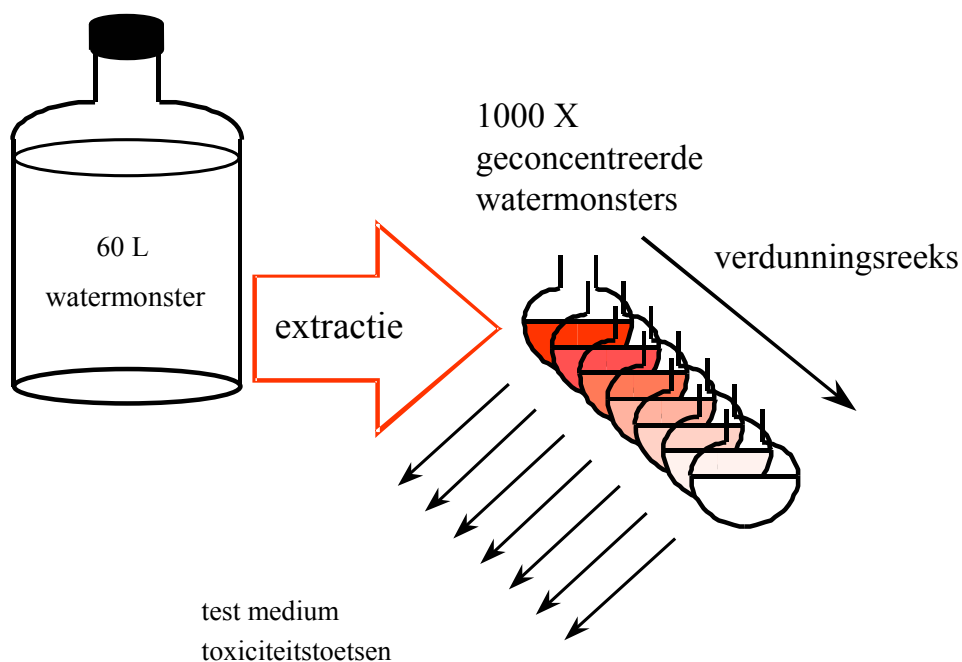


Figuur 1 Geografische weergave van de bemonsteringslocaties

2.2 Het concentreren van de watermonsters

De opwerkingsmethodiek van het oppervlaktewater bestaat uit het extraheren en concentreren van organische microverontreinigingen. Anorganische toxicanten, waaronder metalen, zouten en nutriënten onttrekken zich aan deze methode.

Het oppervlaktewater met het daarin aanwezige zwevende materiaal wordt 48 uur geschud met een hars (XAD 4 en 8) waaraan de aanwezige organische microverontreinigingen worden gebonden. Het hars wordt vervolgens gescheiden van het water en overnacht gedroogd aan de lucht, waarna het wordt geëluëerd met aceton. Het aldus verkregen extract wordt in een vriezer bij -20°C bewaard voor verdere opwerkingen. De opwerkprocedure van oppervlaktewater naar de aceton-fase is door Struijs et al. (2001) beschreven.



Figuur 2 Procedure voor het opwerken en toetsen van oppervlaktewater.

2.3 Kuderna-Dänish (KD)

Op de dag van het uitvoeren van de toxiciteitstoetsen worden de acetonconcentraten opgewerkt naar de water-fase.

Het aceton wordt met behulp van Kuderna-Dänish (KD) destillatie zo goed mogelijk verwijderd en vervangen door water, waarna het met EPA-medium wordt aangevuld tot 60 ml. 60 Liter van het oorspronkelijke monster met de daarin opgeloste organische microverontreinigingen is hiermee theoretisch 1000 keer geconcentreerd. Figuur 2 geeft de opwerkingsprocedure schematisch weer. Deze methode is door Struijs et al. (2001) beschreven.

2.4 Toxiciteitbepaling.

Om de toxiciteit van het geconcentreerde oppervlaktewater te bepalen wordt er eerst een verdunningreeks gemaakt (zie figuur 2). Deze verdunningsreeks wordt toxicologisch onderzocht. Hiervoor worden vijf toxiciteitstoetsen met verschillende organismen gebruikt. Voor elke toets kan een dosis-respons curve worden berekend, waaruit een EC_{50} of LC_{50} kan worden afgeleid. Omdat dit niet een standaard EC_{50} of LC_{50} op basis van een concentratie van een stof betreft maar een concentreringsfactor van een milieumonster waarbij 50% van de organismen effecten ondervindt, wordt in dit rapport verder gesproken over een EC_{50}^f of LC_{50}^f .

Met andere woorden, wanneer er voor een toxiciteitstoets een EC_{50}^f van 10 gerapporteerd wordt, betekent dit dat het oppervlaktewater 10 keer geconcentreerd moet worden om deze EC_{50} te meten. De toxiciteit is omgekeerd evenredig aan de LC_{50}^f of EC_{50}^f ; hoe hoger de waarde van LC_{50}^f of EC_{50}^f hoe lager de toxiciteit.

Voor het toetsen van het oppervlaktewater worden vijf organismen gebruikt. Tabel 2 geeft een aantal karakteristieken van de gebruikte toetsen weer.

Tabel 2 Toxiciteitstoetsen voor het testen van de toxiciteit van de opgewerkte monsters.

Toets	Organisme	Toetsduur	Toxicologische Observatie	Toxicologische Parameter
PAM	<i>Pseudokirchneriella subcapitata</i>	4,5 uur	Fluorescentie na aanslaan fotosynthesesysteem	EC_{50}^f (E=remming op fotosynthese)
Daphnia IQ	<i>Daphnia magna</i>	1 uur 15 min	Luminescentie	EC_{50}^f (E=afname enzymactiviteit)
Thamnotox	<i>Pseudokirchneriella subcapitata</i>	24 uur	Sterfte	LC_{50}^f
Rotox	<i>Brachionus calyciflorus</i>	24 uur	Sterfte	LC_{50}^f
Microtox	<i>Vibrio fischeri</i>	5 en 15 min	Remming van luminescentie	EC_{50}^f (E=afname enzymactiviteit)

Algentoets (PAM)

De Algentoets van Van Beusekom et al. (1999) wordt uitgevoerd met het testorganisme *Pseudokirchneriella subcapitata*. Met deze toets wordt het effect van de toxicanten op de fotosynthese gemeten. De algen worden 4,5 uur blootgesteld aan een verdunningsreeks waarna de remming van de fotosynthese-efficiëntie wordt gemeten met behulp van een Pulse-Amplitude-Modulation fluorometer (PAM). Fotosysteem I van de algen wordt door middel van een lichtpuls met hoge intensiteit verzadigd. Hierbij wordt het ontvangen licht omgezet in een chemisch energierijke verbinding (ATP). Bij een goed functionerende algencel wordt de ATP doorgegeven aan fotosysteem II, waar de ATP wordt gebruikt voor de vorming van glucose (fotosynthese). Als fotosysteem II geremd is door de blootstelling aan toxische stoffen, kan fotosysteem I de ATP niet doorgeven en valt even later de ATP terug naar een minder energierijke toestand (ADP). Dit heeft tot gevolg dat de cel licht van een lagere frequentie zal uitzenden. De uitgezonden lichtintensiteit is een maat voor het disfunctioneren van de fotosynthese. Dit wordt gemeten met de parameter yield die een maat is voor de fotosynthese efficiëntie. Wanneer 50% van de yield wordt gemeten ten opzichte van de yield van de controle is dat de uitkomst van de test. De verdunning van het concentraat waarbij deze lichtopbrengst wordt gemeten is de EC_{50}^f . De toets is gevoelig voor herbiciden en relatief ongevoelig voor narcotische verbindingen en detergents (Vaal en Struijs, 2002).

Daphnia IQ toets

In de Daphnia magna IQ test (Aqua Survey, Inc, 1993) wordt de toxiciteit bepaald door de remming te meten van een enzymatische reactie bij *Daphnia magna*. In de test worden hongerige jonge *Daphnia*'s van ca. 4 dagen oud blootgesteld aan een serie verdunningen van de waterconcentraten. De test wordt in triplo uitgevoerd met 5 tot 6 *Daphnia*'s per 10 ml oplossing. Na 1 uur blootstelling wordt een tracer verbinding (4-methylumbelliferyl- β -D-galactoside) toegevoegd aan elke verdunning. Na 15 minuten incubatie wordt de fluorescentie van iedere *Daphnia* met behulp van UV-licht gemeten. De toxiciteit wordt bepaald uit de remming van de enzymatische splitsing van de galactoside uit de tracer. Hoe minder licht gemeten wordt, hoe toxischer het monster is. Het eindpunt van de test is die verdunning waarbij de *Daphnia* 50% van het licht emitteert ten opzichte van het controle monster (EC_{50}^f). Deze toxiciteittoets is relatief ongevoelig voor narcotische stoffen maar gevoelig voor pesticiden en detergenten (Vaal en Struijs, 2002).

Thamnotox-toets

De Thamnotox-toets is een commercieel verkrijgbare bioassay kit voor het meten van acute toxiciteit in water (Centeno et al., 1995). Het testorganisme *Thamnocephalus platyurus* is beschikbaar als cysten in gedroogde vorm. Na incubatie van 24 uur in standaard medium onder voortdurende belichting komen deze uit. Na 4 uur acclimatiseren kunnen ze worden gebruikt voor de test. De toxiciteit van de concentraten wordt bepaald als het percentage sterfte binnen 24 uur na blootstelling aan een serie verdunningen. De test wordt uitgevoerd in een multiwell plaat met well-volumes van 1 ml. Per testvatje worden 10 organismen toegevoegd. De test wordt in triplo uitgevoerd. Na 24 uur blootstelling worden de onbeweeglijke organismen geregistreerd. De toxiciteit wordt uitgedrukt als die verdunning waarbij 50% van de testorganismen is gestorven (LC_{50}^f). De toxiciteittoets is relatief ongevoelig voor narcotische stoffen en pesticiden maar gevoelig voor detergenten (Vaal en Struijs, 2002).

Rotox-toets

De Rotox-toets is ook een commercieel verkrijgbare bioassay kit voor het meten van acute toxiciteit in water (Snell en Persoone, 1989; Snell et al., 1991). De test de rotifeer *Brachyonus calyciflorus* wordt op vergelijkbare wijze uitgevoerd als de Thamnotox-toets. Ook dit organisme is als cysten beschikbaar. De eieren komen na 16-18 uur onder continue belichting uit in een gestandaardiseerd medium. Voor deze test wordt een multiwell plaat gebruikt met een well-volume van 0,3 ml. Per testvatje worden 5 organismen toegevoegd. De test wordt in zesvoud uitgevoerd. Na 24 uur blootstelling aan de testconcentratie wordt het aantal dode organismen geregistreerd. De toxiciteit wordt uitgedrukt als LC_{50}^f . Dat is die verdunning van het concentraat waarbij 50% van de organismen is gestorven. In vergelijking met de eerdere genoemde toetsen, is de gevoeligheid van de Rotox-toets voor organische microverontreiniging onbekend.

Microtox-toets

Bij de Microtox-toets (Bulich, 1979; Bulich en Isenberg, 1981) wordt *Vibrio fischeri* gebruikt. Het organisme is een luminescerende bacterie. Van de luminescerende eigenschap wordt gebruik gemaakt

bij de Microtox-toets. Wanneer deze bacterie in contact komt met een toxische stof zal het celmetabolisme veranderen wat directe gevolgen heeft voor de hoeveelheid licht die deze bacterie nog kan uitzenden. De gevriesdroogde bacteriën worden in een reconstitutie medium opgewekt, waarna een hoeveelheid bacteriesuspensie wordt toegevoegd aan 3 ml van een verdunningsreeks. De lighthoeveelheid wordt fotometrisch bepaald na 5 en 15 minuten. Het eindpunt van de test is de laagste verdunningsconcentratie waarbij de lichtemissie is gedaald tot 50%, onafhankelijk of deze wordt gemeten na 5 of 15 minuten (EC_{50}^f). Deze toxiciteitstoets is gevoelig voor narcotische stoffen en detergents en ongevoelig voor pesticiden (Vaal en Struijs, 2002).

2.5 Berekening potentiële toxiciteit

De eindpunten van de toxiciteitmetingen zijn de basis voor de berekening van de potentiële toxiciteit van de watermonsters. Hiermee wordt een cumulatieve gevoeligheidsverdeling gefit door de meetpunten, zoals is beschreven door Roghair et al. (1997). Met behulp van deze fit wordt de potentiële toxiciteit geschat als de fractie van de generieke soortenverzameling die in het ongeconcentreerde watermonster chronisch wordt blootgesteld boven de NOEC (Potentieel Aangetaste Fractie, PAF).

De No-Observed Effect Concentration factor ($NOEC^f$) wordt berekend uit de gemeten EC_{50}^f of de LC_{50}^f , door aan te nemen dat de $NOEC^f$ gemiddeld over alle soorten een factor 10 lager ligt dan de EC_{50}^f of de LC_{50}^f (De Zwart et al., 2002).

$$NOEC^f = \frac{EC_{50}^f}{10} \text{ en } NOEC^f = \frac{LC_{50}^f}{10} \quad \text{Formule 1}$$

De organismen gevoeligheidsverdelingscurve wordt beschreven met de volgende functie (De Zwart et al., 2002):

$$PAF = F(C^f) = \frac{1}{1 + e^{-\left(\frac{10 \log(C^f) - \alpha}{\beta}\right)}} \quad \text{Formule 2}$$

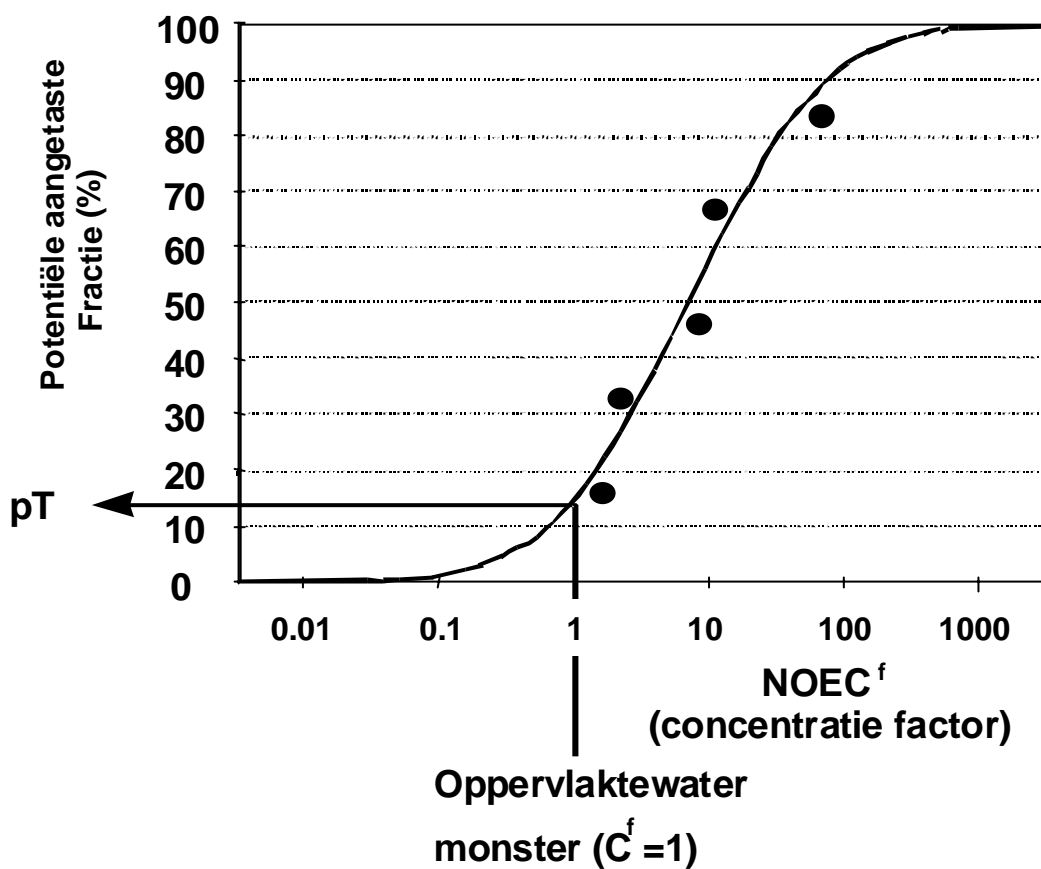
Hierin is α het gemiddelde van de log getransformeerde $NOEC^f$ -waarden van de verschillende soorten:

$$\alpha = \frac{1}{n} \sum_{i=1}^n 10 \log(NOEC_i^f) \quad \text{Formule 3}$$

β wordt geschat uit de standaarddeviatie van de log getransformeerde $NOEC^f$ -waarden van de verschillende soorten:

$$\beta = \frac{\sqrt{3}}{\pi} \cdot s = \frac{\sqrt{3}}{\pi} \cdot \sqrt{\frac{1}{n-1} \cdot \sum_{i=1}^n (10 \log(NOEC_i^f) - \alpha)^2} \quad \text{Formule 4}$$

De potentiële toxiciteit (pT) van het actuele oppervlaktewater wordt berekend door in formule 2 voor C^f het getal 1 in te vullen (de waarde voor het ongeconcentreerde oppervlaktewater monster). In figuur 3 wordt de bovenstaande berekening grafisch weergegeven.



Figuur 3 Grafischeweergave van de pT-berekening

3 Resultaten

3.1 Algemeen

In 2006 zijn voor een aantal locaties en bemonsteringsdata geen resultaten voor de bioassays Thamnotox en Rotox gerapporteerd (bijlage 1).

De reden van het niet rapporteren van deze data is dat de kwaliteitseisen gesteld aan de bioassays niet gehaald werden. In tabel 3 worden de locaties en bemonsteringsdata weergegeven waarbij er geen resultaten van de Thamnotox en Rotox gerapporteerd zijn. Doordat deze twee bioassays niet meegenomen werden in verdere mathematische bewerkingen heeft dit met name invloed op de spreiding van de berekende potentiële toxiciteit. In het geval dat met drie bioassays de potentiële toxiciteit uitgerekend wordt, zal de spreiding rondom het berekende pT-getal groter worden vergeleken met een standaard berekening op basis van vijf bioassays. Een deel van het monster Lobith 06-04 is tijdens de opwerking verloren gegaan en is daarom komen te vervallen.

In de maand november is er een duplo bepaling uitgevoerd van het oppervlaktewater uit Maassluis en Sas van Gent.

Tabel 3 Lijst van locaties en data waarbij de kwaliteitscontrole voor de Thamnotox en Rotox onvoldoende zijn.

Locatie	Bemonsteringsdatum
Eijsden 06-04	4-jul-06
Eijsden 06-06	24-okt-06
Lobith 06-04	5-jul-06
Lobith 06-06	25-okt-06
Maassluis 06-06A	1-nov-06
Maassluis 06-06B	1-nov-06
Sas van Gent 06-03	24-apr-06
Amsterdam 06-03	18-mei-06
Amsterdam06-05	7-sep-06
Amsterdam 06-06	2-nov-06

3.2 Analyses van de toxiciteit

De toxiciteit is op twee manieren geanalyseerd: op basis van een rangordemethodiek van de gemeten toxiciteit en op basis van een berekening van de potentiële toxiciteit (pT).

3.2.1 Berekening potentiële toxiciteit (pT)

Voor de pT analyse worden de gemeten acute effect concentraties (EC_{50}^f of LC_{50}^f) eerst omgerekend naar No Effect Concentraties ($NOEC^f$) van het oorspronkelijke monster, door de gemeten EC_{50}^f of LC_{50}^f te delen door de assessmentfactor 10. Met de $NOEC^f$'s wordt een log-logistische soorten gevoeligheidsverdeling berekend. Uit deze verdeling wordt de potentiële toxiciteit (pT) bepaald (Roghair et al., 1997). In tabel 4 wordt de potentiële toxiciteit logaritmischesch weergegeven van de vijf locaties. Hierbij is de spreiding in het resultaat ook weergegeven..

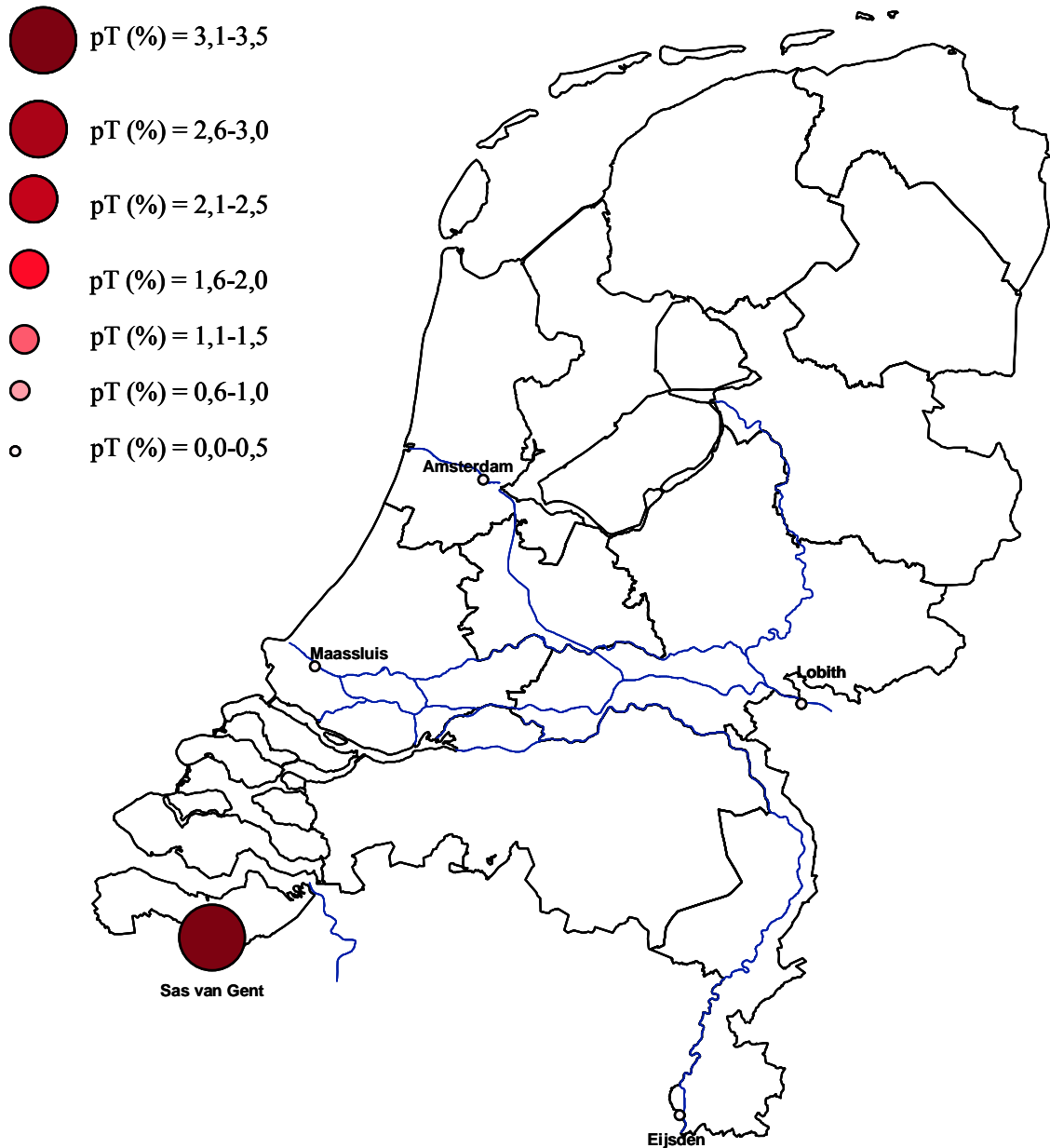
Uit deze tabel blijkt dat in april 2006 de hoogste potentiële toxiciteit (10%) werd gemeten in het oppervlaktewater van Sas van Gent, deze was wel gebaseerd op 3 bioassays. De hoogste potentiële toxiciteit op basis van 5 bioassays werd ook gemeten in het oppervlaktewater van Sas van Gent, in augustus 2006 (pT = 5%).

Tabel 4 De potentiële toxiciteit (logaritmischesch uitgezet) in oppervlaktewater van de vijf locaties in 2006.

	Datum bemonstering	pT		aantal bioassays
		pT	5 - 95 b.t.i	
Eijsden 06-01	17-jan-06	0.21	0.00-15	5
Eijsden 06-02	14-mrt-06	0.00	0.00-4.2	5
Eijsden 06-03	9-mei-06	0.90	0.00-22	5
Eijsden 06-04	4-jul-06	0.00	0.00-10	3
Eijsden 06-05	29-aug-06	0.70	0.00-20	5
Eijsden 06-06	24-okt-06	0.00	0.00-0.6	3
Lobith 06-01	18-jan-06	0.00	0.00-1.4	5
Lobith 06-02	15-mrt-06	0.00	0.00-1.6	5
Lobith 06-03	10-mei-06	0.00	0.00-5.7	5
Lobith 06-04	5-jul-06			
Lobith 06-05	30-aug-06	0.01	0.00-7.9	5
Lobith 06-06	25-okt-06	0.00	0.00-0.00	3
Maassluis 06-01	25-jan-06	0.08	0.00-12	5
Maassluis 06-02	22-mrt-06	0.00	0.00-6.4	5
Maassluis 06-03	17-mei-06	0.00	0.00-6.4	5
Maassluis 06-04	12-jul-06	0.00	0.00-3.7	5
Maassluis 06-05	6-sep-06	0.00	0.00-6.5	5
Maassluis 06-06A	1-nov-06	0.00	0.00-16	3
Maassluis 06-06B	1-nov-06	0.00	0.00-18	3
Sas van Gent 06-01	3-jan-06	0.05	0.00-11	5
Sas van Gent 06-02	27-feb-06	0.16	0.00-14	5
Sas van Gent 06-03	24-apr-06	10	0.58-57	3
Sas van Gent 06-04	19-jun-06	1.2	0.01-23	5
Sas van Gent 06-05	14-aug-06	5.4	0.33-35	5
Sas van Gent 06-06A	9-okt-06	1.4	0.02-25	5
Sas van Gent 06-06B	9-okt-06	1.3	0.02-24	5
Amsterdam 06-01	26-jan-06	0.00	0.00-5.7	5
Amsterdam 06-02	23-mrt-06	0.00	0.00-4.6	5
Amsterdam 06-03	18-mei-06	0.00	0.00-7.8	3
Amsterdam 06-04	13-jul-06	0.00	0.0-2.2	5
Amsterdam 06-05	7-sep-06	0.00	0.0-6.5	3
Amsterdam 06-06	2-nov-06	0.00	0.0-18	3

Om zichtbaar te maken hoe de potentiële toxiciteit ruimtelijk verdeeld is, is voor elk van de vijf locaties de gemiddelde potentiële toxiciteit berekend van alle meetdata van 2006. Deze potentiële toxiciteit wordt in figuur 4 weergegeven. De locaties zijn gemarkeerd als rode rondjes. Naarmate de potentiële toxiciteit groter wordt, resulteert dit in een groter rondje en wordt de rode kleur donkerder. Uit deze

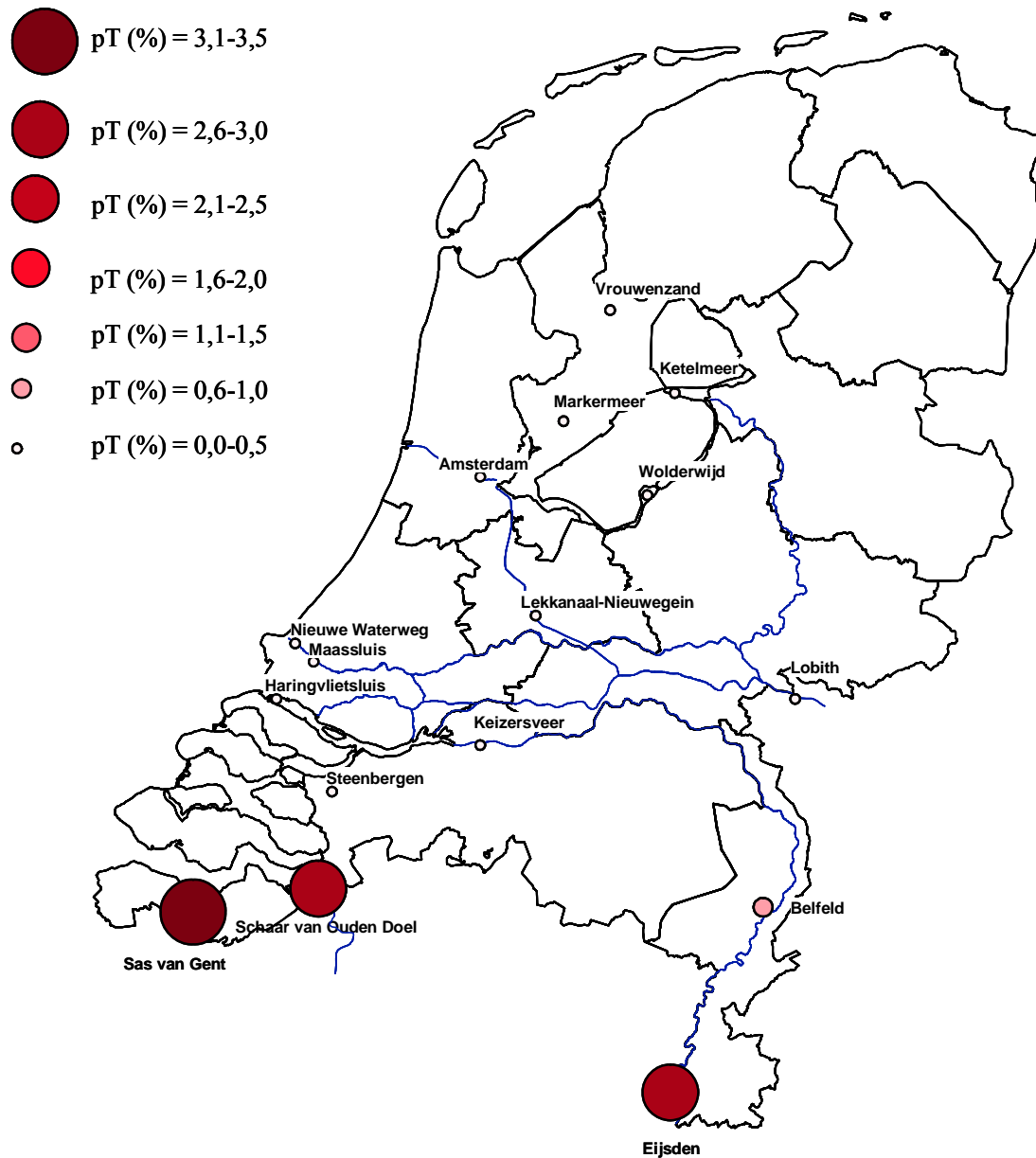
figuur is af te lezen dat het oppervlaktewater uit Sas van Gent het meest toxisch is (pT is 3,1%). Voor de andere vier locaties geldt dat de pT-waarde tussen de 0,0 en 0,5% ligt.



Figuur 4 Geografische weergave weergave van de berekende potentiële toxiciteit op vijf locaties uit 2006, indien de cirkel groter en roder wordt is de berekende potentiële toxiciteit hoger.

Om een vergelijking te maken met de locaties die de afgelopen zeven jaar zijn gemeten, worden de resultaten van de potentiële toxiciteit in 2006 samen met de resultaten van 2000 t/m 2005 die beschreven staan in de Groot et al. (2007) in één grafiek weergegeven. De aanname is dat de algemene

toxiciteit over de jaren constant blijft en dat gegevens uit verschillende jaren dus naast elkaar gepresenteerd kunnen worden.



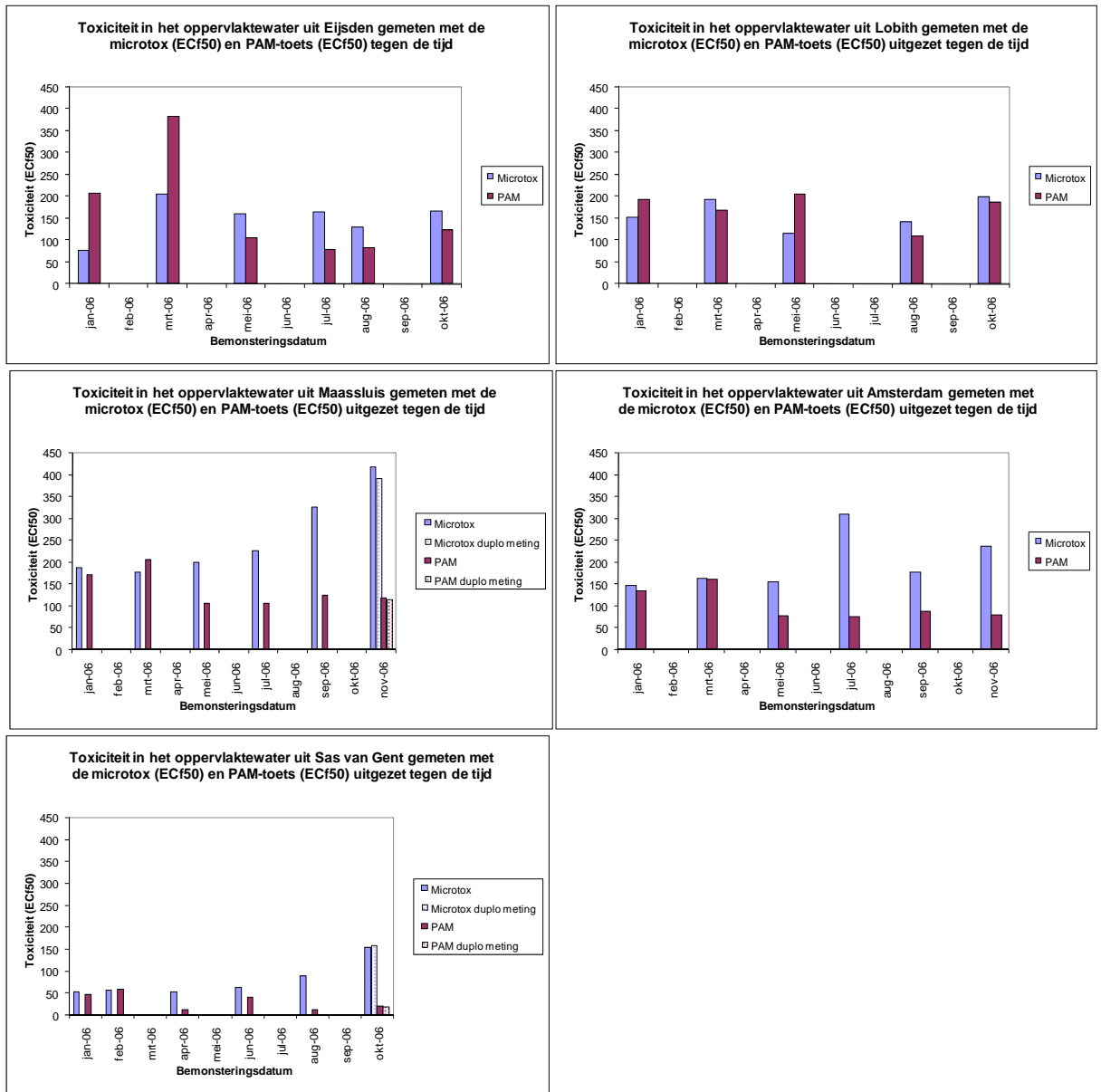
Figuur 5 Geografische weergave van de berekende potentiële toxiciteit (van 2000 t/m 2006) op 16 locaties. Indien de cirkel groter en roder wordt is de gemeten toxiciteit groter.

3.2.2 Rangordemethodiek

In een voorgaande rapportage (De Groot et al., 2007) werd met het programma SAS (www.sas.com) de data van 2000 tot en met 2005 statistisch doorberekend.

Met behulp van een Multilevel Gegeneraliseerd Lineair Model (Mulder et al., 2006) werden de volgende scenario's doorgerekend: "locatie" en "locatie als functie van het jaar". Hieruit werden de volgende conclusies getrokken: de Microtox en Thamnotox zijn de twee meest geschikte bioassays gevolgd door de PAM-toets om zowel een ruimtelijk patroon als een jaarlijkse trend te laten zien. Het toetsresultaat van deze bioassays is onafhankelijk van de datum van bemonstering binnen het jaar. Het nadeel om het oppervlaktewater te toetsen met twee bioassays is dat er dan geen uitspraak meer gedaan kan worden over het aquatisch ecosysteem en deze methode alleen maar geschikt is voor het volgen van een trend over de jaren. Voor het aantonen van een trend binnen één jaar zijn de bioassays PAM en Rotox zeer geschikt omdat het toetsresultaat van deze bioassays varieert met de datum van bemonsteren binnen een jaar (de Groot et al., 2007).

Doordat niet alle resultaten van de Thamnotox bekend zijn wordt er in de rangordemethodiek in plaats daarvan gebruik gemaakt van de resultaten van de PAM-toets, samen met de Microtox. In figuur 6 zijn van alle vijf locaties de toxiciteit uitgedrukt in EC_{50}^f van de Microtox en de PAM-toets uitgezet tegen de datum, in Bijlage 1 staan de waarden weergegeven. Uit deze grafieken kan worden afgelezen dat het oppervlaktewater bij Sas van Gent de laagste EC_{50}^f laat zien en dus van de geteste wateren het meest verontreinigd is, gevolgd door het oppervlaktewater uit Amsterdam, Maassluis heeft de laagst gemeten toxiciteit.



Figuur 6 Grafische weergaven van de gemeten toxiciteit in 2006 van de Microtox (EC_{50}^f) en PAM-toets(EC_{50}^f) in het oppervlaktewater van vijf locaties uitgezet tegen de tijd, in Bijlage 1 staan de gemeten EC_{50}^f waarden weergegeven. Hoe lager de EC_{50}^f , hoe toxischer het water.

Voor een geografische weergave wordt gebruik gemaakt van een methode van rangorde. De gemeten toxiciteit van de Microtox (EC_{50}^f) en de PAM (EC_{50}^f) van het jaar 2006 (bijlage 1) wordt hiervoor gebruikt. Per locatie wordt het gemiddelde berekend van de zes metingen van het jaar 2006 van de Microtox data (EC_{50}^f) en gesorteerd van lage naar hoge toxiciteit waarna er een rangnummer aan de locatie wordt gegeven (zie tabel 5). Dit wordt ook gedaan voor de PAM data.

Tabel 5 Rangorde van lage toxiciteit (=1) naar hoge toxiciteit (=5) gemeten met de Microtox en PAM-toets

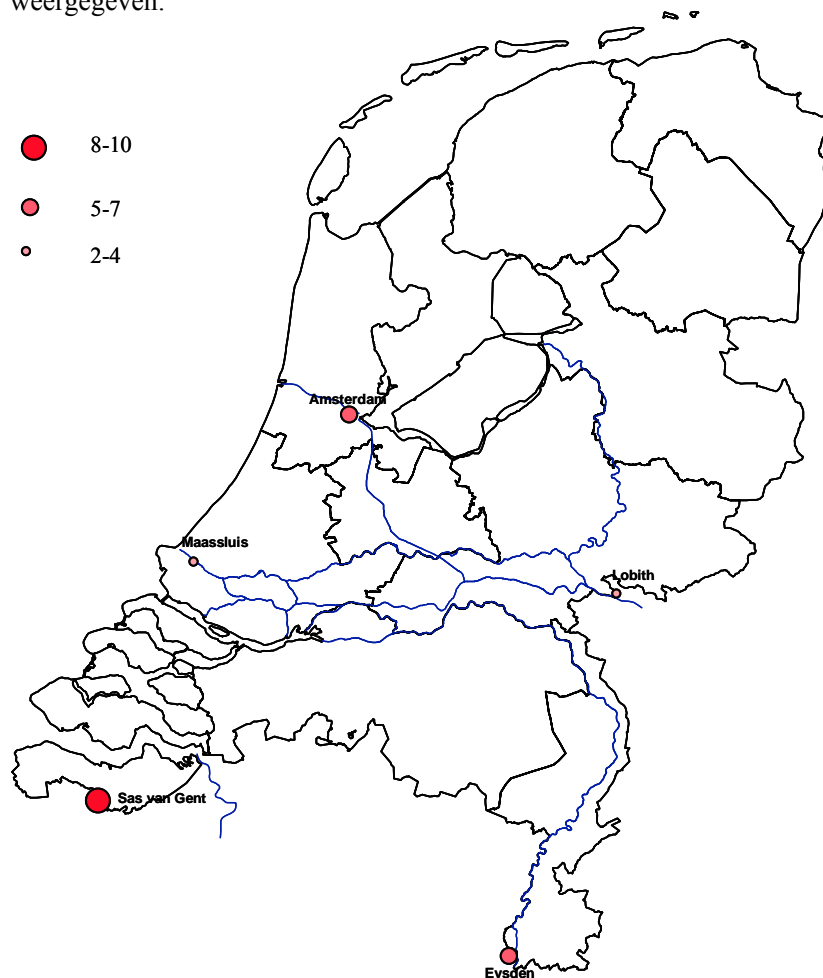
Microtox	rangnummer	PAM	rangnummer
Maassluis	1	Lobith	1
Amsterdam	2	Eijsden	2
Lobith	3	Maassluis	3
Eijsden	4	Amsterdam	4
Sas van Gent	5	Sas van Gent	5

De rangnummers van de Microtox en PAM-toets worden bij elkaar opgeteld en daarna wordt dit totaal weer gerangschikt van laag naar hoog (zie tabel 6).

Tabel 6 Locaties gerangschikt van lage toxiciteit naar hoge toxiciteit op basis van de twee toxiciteitstoetsen Microtox en PAM.

Locatie	rangnummer
Lobith	4
Maassluis	4
Eijsden	6
Amsterdam	6
Sas van Gent	10

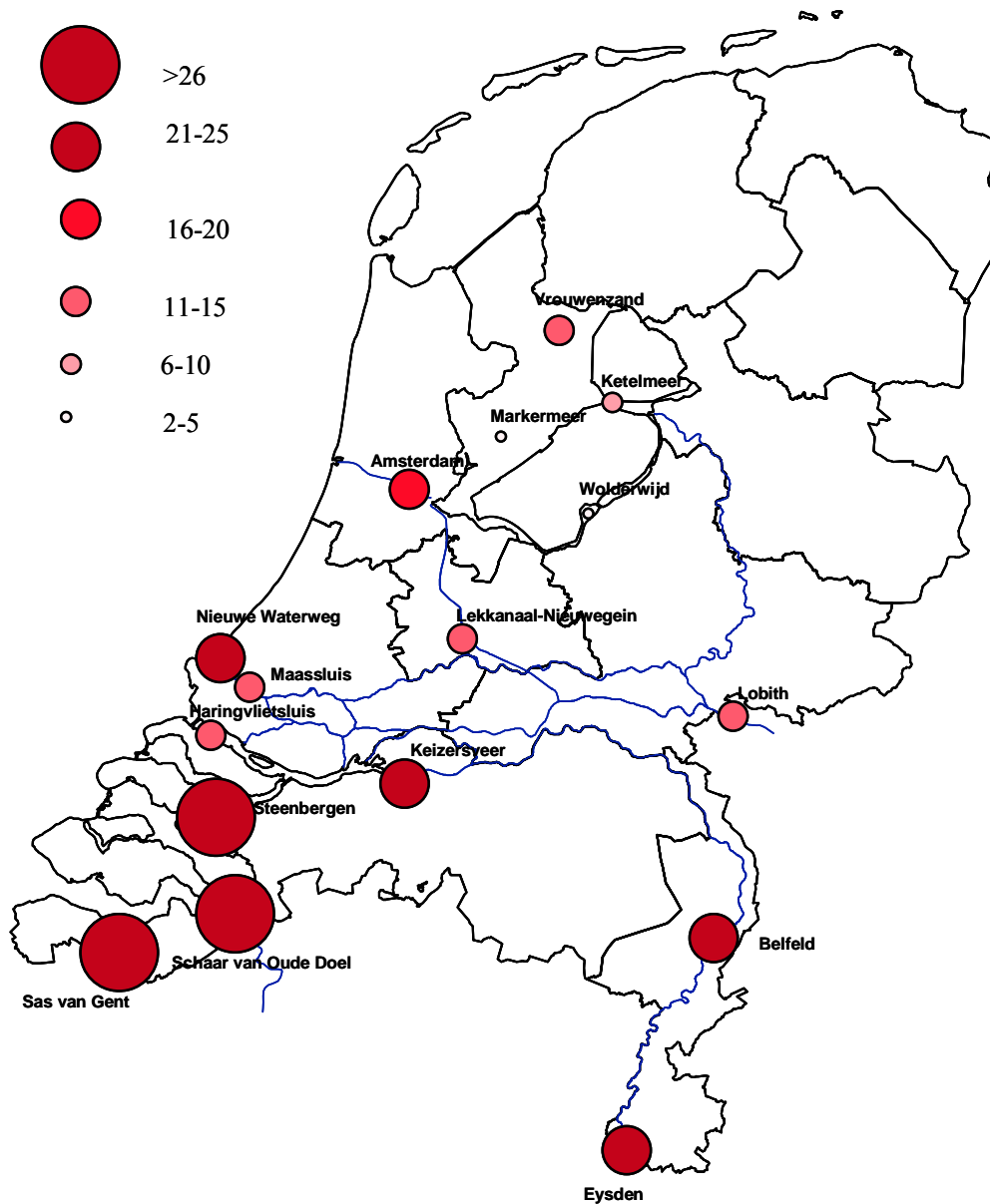
In figuur 7 is een classificering gemaakt van deze rangordes en zijn de resultaten daarvan geografisch weergegeven.



Figuur 7 Geografische weergave van een classificering van de rangorde van de gemeten toxiciteit (Microtox en PAM) op de vijf meetlocaties in 2006.

Indien de cirkel groter en roder wordt is de gemeten toxiciteit als meer toxisch geclassificeerd ten opzichte van de andere locaties.

Om een beeld te krijgen van hoe de toxiciteit op de locaties gemeten in 2006 zich verhouden ten opzichte van de toxiciteit gemeten op andere locaties in voorgaande jaren is de berekening en classificering opnieuw uitgevoerd met de resultaten van 2000 t/m 2006 voor de Microtox en PAM-toets. Het resultaat is weergegeven in figuur 8. Hieruit blijkt dat het oppervlaktewater uit Schaar van Ouden Doel, Sas van Gent en Steenberg en het meest toxisch zijn en dat het oppervlaktewater uit het Markermeer en Wolderwijd het minst toxisch zijn.



Figuur 8 Geografische weergave van de rangorde van de gemeten toxiciteit op basis van de Microtox en PAM testen (van 2000 t/m 2006) op zestien locaties. Indien de cirkel groter en roder wordt, is de gemeten toxiciteit als groter geclassificeerd.

4 Discussie

Voor beide ruimtelijke patronen geldt dat er arbitraire keuzes gemaakt zijn ten aanzien van de klasse bepalingen van de locaties. Voor het berekenen van de gemiddelde toxiciteit van de Microtox en PAM-toets is gekozen voor rangordes. Er zijn meerdere rekenwijzen die valide zijn. Voor beide ruimtelijke patronen geldt dat er een verschuiving van classificatie zou kunnen ontstaan door toepassing van een andere norm of methode om de data van de Microtox en PAM-toets te combineren.

Het voordeel van de rangschikmethode is dat het ruimtelijke patroon wiskundig niet wordt afgevlakt (zoals met de pT berekening) en verschillen van toxiciteit in het oppervlaktewater van de locaties inzichtelijker blijven. Nadeel van het rapporteren op deze wijze is dat het aantal klassen bepaald wordt door het aantal locaties: naarmate het aantal locaties kleiner wordt zal dus maar een beperkte klasse indeling kunnen plaats vinden.

Een ander nadeel van het rapporteren van de data op basis van rangordes van gemeten toxiciteit is dat resultaten hiervan niet met voorgaande jaren zijn te vergelijken in tegenstelling tot de pT methode. Om vergelijkingen te maken zal opnieuw de berekening uitgevoerd moeten worden.

5 Conclusie

In 2006 is de hoogst gemeten pT-waarde 10%, welke is gemeten in april 2006 in het oppervlaktewater in het kanaal Terneuzen - Gent, monsterpunt Sas van Gent. Gemiddeld over 2006 springt de potentiële toxiciteit in het oppervlaktewater uit Sas van Gent er ook negatief uit met een gemiddelde pT van 3,1%. Ook in de meerjarenvergelijking is het oppervlaktewater bij Sas van Gent samen met dat bij Schaar van Ouden Doel en Eijsden een van de meest potentieel toxische oppervlaktewateren.

De pT-methodiek bevat een log-logistische transformatie waardoor het eindresultaat een grotere mate van variatie bevat en waardoor verschillen tussen de onderlinge locaties en jaarlijkse trends minder duidelijk worden. Daarom werd er een rangordemethodiek uitgewerkt die verschillen in toxiciteit van het oppervlaktewater van de verschillende locaties inzichtelijker maakt.

Uit deze rangordemethodiek blijkt dat in 2006 het oppervlaktewater van Sas van Gent het meest toxisch is, gevolgd door het oppervlaktewater uit Eijsden en Amsterdam. Het oppervlaktewater uit Lobith en Maassluis zijn het minst toxisch.

Het nadeel van het vergelijken van de toxiciteit van het oppervlaktewater met een rangorde systematiek is dat er geen uitspraak meer gedaan kan worden over het gehele aquatisch ecosysteem. Deze methode kan daardoor dan ook alleen maar gebruikt worden om een trend in de tijd of een trend in een ruimtelijk patroon te volgen. Het voordeel van deze methodiek ten opzichte van de pT-methodiek is dat er alleen gekeken wordt naar het daadwerkelijk opgetreden effect in het oppervlaktewater.

Afhankelijk van de vraagstelling kan er gekozen worden voor een bepaalde methodiek van meten en berekeningen.

De gerapporteerde toxiciteit zal in de praktijk een onderschatting zijn van de werkelijke toxiciteit. Deze onderschatting is het gevolg van de opwerkingsmethodiek en de verdere mathematische bewerkingen waarbij er niet wordt gecorrigeerd voor de recovery van organische microverontreinigingen en voor toxiciteit geïntroduceerd door metalen.

6 Aanbevelingen

- Kies afhankelijk van de vraagstelling, een methodiek (welke bioassays en welke rekentechniek) die het meest geschikt is.
- Afhankelijk van de gemeten toxiciteit van de afgelopen zeven jaar zou de monitorings frequentie aangepast kunnen worden. Locaties waarbij een relatief hoge toxiciteit gemeten wordt zouden jaarlijks gemonitord kunnen worden en locaties waar lage toxiciteit wordt gemeten zouden om de twee jaar gemonitord kunnen worden.
- De pT-methode richt zich met name op organische micro-verontreinigingen aangezien met name deze stoffen bij de extractie procedure worden meegenomen. De toxiciteit geïntroduceerd door metalen/nutriënten wordt niet meegenomen in de pT-methodiek. Hierdoor wordt er een onderschatting gemaakt van de totale toxiciteit in het oppervlaktewater. Om deze reden is het aan te bevelen om een methodiek (praktische of mathematische) te ontwikkelen om de toxiciteit geïntroduceerd door metalen/nutriënten mee te nemen in de totale toxiciteit (pT-methode).
- De recovery van micro-verontreinigingen is stof-afhankelijk. Bij de berekening van de potentiële toxiciteit wordt hiermee geen rekening gehouden. Dit resulteert in een onderschatting van de pT-waarde (best-case scenario). Om een reëel beeld te krijgen van de potentiële toxiciteit zou er een correctie hierop kunnen worden toegepast. Het is echter nog niet duidelijk welke factor daarvoor gekozen zou moeten worden en het is experimenteel lastig die factor vast te stellen.
- De afgelopen decennia is voor verschillende aquatische ecosystemen een pT-waarde berekend. Hiermee kan zowel een ruimtelijk patroon als een jaarlijkse trend berekend worden. Een pT van 5% houdt in dat 5% van de aanwezige organismen worden blootgesteld boven hun NOEC waarde. Tot op heden is er geen duidelijke relatie bekend tussen de gemeten pT-waarde en de ecologie van een aquatisch ecosysteem. Om deze reden is het aan te bevelen om te onderzoeken of er verbanden zijn tussen een gemeten pT-waarde en ecologische data van dezelfde locaties.

Referenties

- Aqua Survey, Inc. (1993). *Daphnia magna* IQ toxicity test, technical information update. Aqua Survey, Inc, 499 Point Breeze R.D, Flemington, NJ. USA.
- Beusekom van S.A.M, Admiraal W., Sterkenburg A., de Zwart D., (1998), Handleiding PAM-test ECO-notitie 98/09.
- Bulich, A.A. 1979. Use of the luminescent bacteria for determining toxicity in aquatic environments. In *Aquatic Toxicology*. ASTM 667, Markings, L.L. and R.A. Kimerle, Eds, American Society for Testing and Materials, Philadelphia, PA, USA: pp. 98-106.
- Bulich, A.A., Isenberg D.L. (1981). Use of the luminescent bacterial system for the rapid assesment in aquatic toxicity. *ISA Transactions*, 20: 29-33
- Centeno M.D, Persoone G., Goyvaerts M.P. (1995). Cyst-based toxicity tests IX: the potential of *Thamnocephalus platyurus* as test species in comparison with *Streptocephalus proboscideus* (Crustacea, Branchiopoda, Anostraca). *Environmental Toxicology and Water Quality*, 10: 275-282
- Collombon M., van de Kamp R.E., Struijs J. Procedures for extracting organic micropollutants from water samples to monitor toxicological stress. RIVM Report No. 607042008, 1997.
- De Zwart D. (2002), Observed regularities in species sensitivity distributions for aquatic species. In L. Posthuma, G.W. Suter II and T.P. Traas (eds) *Species Sensitivity Distributions in Ecotoxicology*. Lewis Publishers, blz 133-154.
- De Zwart D., Sterkenburg A. (2002), Toxicity-based assesment of water quality. In L. Posthuma, G.W. Suter II and T.P. Traas (eds) *Species Sensitivity Distributions in Ecotoxicology*. Lewis Publishers, pp 383-402
- De Groot A.C., Wouterse M.J., Dijk van G.G., Bepaling van de toxische druk in Rijkswateren. Report No. 607013002/2007
- European Inventory of Existing Commercial Chemical Substances (EINECS)
EINECS published in O.J. C 146A, 15.6.1990.
EINECS corrections published in O.J. C 54/13 01.03.2002, 2002/C54/08.
<http://ecb.jrc.ec.europa.eu/esis/index.php?PGM=ein>
- Hamers T., Aldenberg T., van de Meent D. (1996) Definition report – Indicator effects toxic substance (tox). RIVM reports no. 607128001
- Maas J.L., van de Plassche E.J., Straetmans A., Vethaak A.D., Belfroid A.C., (2003), Normstelling voor bioassays, RIZA rapport 2003.005, RIKZ rapport nr 2003.007.
- Mulder C., de Zwart D., van Wijnen H. J., Schouten, A. J., Breure, A. M. (2003) Observational and simulated evidence of ecological shifts within the soil nematode community of agroecosystems under conventional and organic farming. *Functional Ecology* 17, 516-525.

Mulder, C., van Wijnen, H. J. & van Wezel, A. P. (2005) Numerical abundance and biodiversity of below-ground taxocenes along a pH gradient across the Netherlands. *Journal of Biogeography* 32, 1775-1790.

Mulder C., Wouterse M., Raubuch M., Roelofs W., Rutgers, M. (2006) Can transgenic maize affect soil microbial communities? *PLoS Computational Biology* 2, 1165-1172 (<http://dx.doi.org/10.1371/journal.pcbi.0020128>).

Roghair C.J., Struijs J., de Zwart D. (1997). Measurement of toxic potency of fresh waters in The Netherlands-part A: Methods. RIVM Reports No. 607504004.

Snell T.W., Persoone G. (1989). Acute toxicity bioassay using rotifers. II. A freshwater test with *Brachionus rubens*. *Aquatic Toxicology*, 14: 81-92

Snell T.W., Moffat B.D., Janssen C., Persoone G. (1991). Acute toxicity bioassay using rotifers.IV. Effect of cyst age, temperature and salinity on the sensitivity of *Brachionus calyciflorus*. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 21: 308-317

Struijs J., van de Kamp, R.E. (2001). Concentrating the unknown cocktail of organic micro pollutants in surface water samples RIVM Report No. 607200004

Struijs J., van de Kamp R.E. (2001). A revised procedure tot concentrate organic micro-pollutants in water. RIVM Report No. 607501001

Traas T.P., van de Meent D., Posthuma L., Hamers T., Kater B.J., de Zwart D., Aldenberg T. (2002). The potentially affected fraction as a measure of ecological risk. In L. Posthuma, G.W. Suter II and T.P. Traas (eds) *Species Sensitivity Distributions in Ecotoxicology*. Lewis Publishers,

Vaal, M.A., Folkerts A.J. (1998). Microbiotests: sentivity and usefulness. RIVM Report No. 607042009.

Vaal, M.A.,Struijs J. (2002). Toxische druk organische microverontreinigingen. Briefrapport.

Bijlage

	Datum bemonstering	Microtox		Daphnia IQ		Thamnotoxkit		Rotoxkit		PAM		pT	
		EC50		EC50		LC50		LC50		EC50		% pT	
		CF	95 % b.t.i	CF	95 % b.t.i	CF	95 % b.t.i	CF	95 % b.t.i	CF	95 % b.t.i	pT	95 % b.t.i
Eijsden 06-01	17-jan-06	76.4	68,9 - 84,9	30.7	26,2 - 36,0	175	145 - 211	228	196 - 266	207	190-226	0	0-15
Eijsden 06-02	14-mrt-06	205.1	197,4 - 213,1	67.7	62,4 - 73,4	207	171 - 250	353	235 - 531	382	361-404	0	0-4
Eijsden 06-03	9-mei-06	159.3	146,2 - 173,6	39.4	33,4 - 46,4	988	854 - 1000	463	359 - 595	105	99-112	1	0-22
Eijsden 06-04	4-jul-06	164.5	159,8 - 19,4	95.4	85,4 - 106,5					79	71-87	0	0-10
Eijsden 06-05	29-aug-06	128.8	115,4 - 143,7	25.4	20,6 - 31,2	269	215 - 337	285	221 - 366	81	74-89	1	0-20
Eijsden 06-06	24-okt-06	166.1	153,4 - 179,9	106.4	93,7 - 121,0					122	111-136	0	0-1
Lobith 06-01	18-jan-06	153	145,7 - 160,6	123.8	105,0 - 145,9	408	344 - 485	438	369 - 520	192	183-202	0	0-1
Lobith 06-02	15-mrt-06	192.8	170,7 - 217,7	157.2	133,8 - 84,7	651	555 - 764	375	296 - 475	168	159-177	0	0-2
Lobith 06-03	10-mei-06	114.9	106,9 - 123,4	194.1	164,9 - 228,5	675	587 - 777	777	571 - 1000	206	194-218	0	0-6
Lobith 06-04	5-jul-06												
Lobith 06-05	30-aug-06	143	128,8 - 158,8	66.7	56,0 - 79,5	350	286 - 428	409	343 - 488	110	105-115	0	0-8
Lobith 06-06	25-okt-06	200	186,2 - 214,8	205	173,4 - 242,3					188	173-204	0	0-0
Maassluis 06-01	25-jan-06	188.3	168,7 - 210,2	93.6	75,0 - 116,7	>1000		>1000		170	161-180	0	0-12
Maassluis 06-02	22-mrt-06	176.7	175 - 178,4	145.5	126 - 168,1	984	641 - 1000	768	394 - 1000	207	192-223	0	0-6
Maassluis 06-03	17-mei-06	200.2	175,4 - 228,6	154.7	113,9 - 210,3	651	571 - 742	641	562 - 730	106	97-116	0	0-6
Maassluis 06-04	12-jul-06	226.8	216,6 - 237,5	139.9	120,4 - 162,6	311	252 - 383	623	446 - 869	107	99-115	0	0-4
Maassluis 06-05	6-sep-06	325.1	315,4 - 335	135.7	119 - 154,7	799	704 - 908	721	610 - 853	125	119-131	0	0-7
Maassluis 06-06A	1-nov-06	417.3	326,1 - 534	231.5	203,9 - 262,8					119	110-128	0	0-16
Maassluis 06-06B	1-nov-06	390.4	307,7 - 495,4	335.4	279,1 - 403,0					112	105-120	0	0-18
Sas van Gent 06-01	3-jan-06	51.4	46,3 - 57	79.4	70,1 - 89,9	178	145 - 219	191	151 - 244	46	43-50	0	0-11
Sas van Gent 06-02	27-feb-06	56.4	54,9 - 57,8	56.6	51,3 - 62,4	240	214 - 269	240	214 - 269	58	54-62	0	0-14
Sas van Gent 06-03	24-apr-06	51.1	41,4 - 63,2	64.9	45,4 - 92,7					11	10-13	10	1-57
Sas van Gent 06-04	19-jun-06	61.7	56,8 - 66,9	90.5	76,1 - 107,6	427	367 - 497	480	408 - 566	39	35-43	1	0-23
Sas van Gent 06-05	14-aug-06	87.2	71,3 - 106,4	57.5	49,9 - 66,2	231	206 - 259	244	211 - 283	11	10-12	5	0-35
Sas van Gent 06-06A	9-okt-06	152.2	137,3 - 168,7	67.7	62,4 - 73,4	218	185 - 256	218	186 - 255	19	19-19	1	0-25
Sas van Gent 06-06B	9-okt-06	158.6	149,2 - 168,5	80.4	71,0 - 90,9	262	220 - 312	228	190 - 272	19	17-21	1	0-24
Amsterdam 06-01	26-jan-06	145.5	138,3 - 153	161.4	139,1 - 187,4	705	595 - 837	561	452 - 695	134	128-140	0	0-6
Amsterdam 06-02	23-mrt-06	162.6	143,3 - 184,4	123.3	107,9 - 141	575	510 - 648	575	510 - 648	160	149-171	0	0-5
Amsterdam 06-03	18-mei-06	154.2	137,8 - 172,6	133.1	108,9 - 162,7					77	71-83	0	0-8
Amsterdam 06-04	13-jul-06	309.4	302,3 - 316,8	113.9	92,7 - 139,9	188	154 - 229	186	154 - 224	74	69-78	0	0-2
Amsterdam 06-05	7-sep-06	176.3	170,3 - 182,6	130	100,1 - 168,7					87	81-93	0	0-7
Amsterdam 06-06	2-nov-06	234.7	197,8 - 278,4	130	105,8 - 159,6					79	73-84	0	0-18

RIVM

Rijksinstituut
voor Volksgezondheid
en Milieu

Postbus 1
3720 BA Bilthoven
www.rivm.nl