

Laan van Westenenk 501
Postbus 342
7300 AH Apeldoorn

www.tno.nl

T 055 549 34 93
F 055 549 32 01
info@mep.tno.nl

TNO-rapport

2006-DH-R0194/B

Een vergelijk van de bioaccumulatie van dioxine en andere contaminanten uit sediment in zeepier (*Arenicola marina*) en zager (*Nereis virens*).

Datum	5 juli 2006
Auteurs	N.H.B.M. Kaag A.C. Sneekes
Projectnummer	004.36269/01.06
Trefwoorden	bioaccumulatie dioxine Arenicola Nereis
Bestemd voor	C.A. Schipper RWS Rijksinstituut voor Kust en Zee

Alle rechten voorbehouden.

Niets uit deze uitgave mag worden vermenigvuldigd en/of openbaar gemaakt door middel van druk, fotokopie, microfilm of op welke andere wijze dan ook zonder voorafgaande toestemming van TNO.

Indien dit rapport in opdracht werd uitgebracht, wordt voor de rechten en verplichtingen van opdrachtgever en opdrachtnemer verwezen naar de Algemene Voorwaarden voor onderzoeksopdrachten aan TNO, dan wel de betreffende terzake tussen de partijen gesloten overeenkomst. Het ter inzage geven van het TNO-rapport aan direct belanghebbenden is toegestaan.

Samenvatting

In het kader van een uitgebreide studie naar het actuele risico van dioxine verontreiniging in het Noordzeekanaal, is de zager (*Nereis virens*) ingezet om het risico van doorvergiftiging te bepalen. Parallel zijn ook analyses van het totaal sediment gehalte en snel desorberend gehalte van dioxine uitgevoerd, alsmede analyses met DR-CALUX. In een selectie van de monsters is ook het gehalte PAK, PCB en metalen geanalyseerd. Ter vergelijking zijn ook zeepieren blootgesteld aan een aantal van de monsters waaraan de zagers werden blootgesteld. Doel van het onderzoek is de bioaccumulatie te vergelijken van deze twee mariene polychaeten. Beide soorten leven in gangen in het sediment. De zager is echter vooral een predator, terwijl de zeepier een obligate sediment-eter is.

Over het algemeen waren de geaccumuleerde gehalten in de zeepier hoger dan in de zager. Voor de meeste stoffen was dit verschil statistisch significant. Alleen bij acenafteen en zink was het gehalte in de zager significant hoger dan in de zeepier. Bij de metalen is er geen duidelijke relatie geconstateerd tussen gehalte in sediment of poriewater en gehalte beide wormen. Waarschijnlijk zijn de gehalten te laag om extra accumulatie te veroorzaken.

Bij de PAK is het gehalte in de zeepier meestal aanzienlijk hoger dan in de zager, wat waarschijnlijk mede veroorzaakt wordt door het feit dat de zager goed in staat is de meeste PAK metabolisch af te breken. Het PAK gehalte in de zager lijkt wat sterker beïnvloed te worden door het snel desorberend gehalte, terwijl het PAK gehalte in de zeepier sterker beïnvloed lijkt te worden door het totaal gehalte in sediment.

Bij dioxine en PCB lijkt de sedimentstructuur een belangrijke rol te spelen bij het verschil in accumulatie tussen zeepier en zager. Op zandige sedimenten is het verschil tussen zeepier en zager groter dan op slibbige sedimenten. Het gehalte in de zager is op slib soms ook hoger dan in de zeepier. Er zijn echter te weinig verschillende sedimentmonsters onderzocht om deze relatie goed uit te werken.

Het snel desorberend gehalte lijkt voor PCB de beste relatie met accumulatie te geven. Bij dioxine is het minder duidelijk. Het gehalte in zager noch zeepier correleerde met het totaal sediment gehalte en snel desorberend gehalte. Wel werd voor beide wormen een zeer sterke correlatie met de DR-CALUX respons gevonden. Aangezien de DR-CALUX test ook een 'totaal-extractie' is, was dit een onverwacht resultaat.

Daar waar bioaccumulatie een rol speelt in de ecotoxicologische risicobeoordeling van een gebied dient terdege rekening gehouden te worden met de eigenschappen van de beschouwde biota. De keuze van de organismen zou bepaald moeten worden door de aard van de verontreiniging en de verwachte blootstellingsroutes, zodat optimaal gebruik kan worden gemaakt van de ecologische karakteristieken van soorten.

Inhoud

	pagina
Samenvatting	3
1. Inleiding	5
2. Materiaal & Methoden	6
2.1 Algemeen.....	6
2.2 Accumulatietesten	6
2.2.1 Nereis virens.....	6
2.2.2 Arenicola marina.....	7
2.3 Chemische analyses.....	7
2.3.1 Organische componenten	7
2.3.2 Metalen.....	8
2.3.3 Statistiek.....	8
3. Resultaten.....	10
3.1 Organische componenten	10
3.1.1 Dioxinen.....	10
3.1.2 PAK.....	12
3.1.3 PCB	17
3.2 Metalen	20
4. Discussie	23
5. Conclusies en aanbevelingen	26
6. Literatuur.....	28
7. Verantwoording	30
Bijlage 1 Correlatie berekeningen	31
Bijlage 2 poster.....	36

1. Inleiding

Bioaccumulatie van sediment-gebonden contaminanten wordt op gestandaardiseerde wijze bepaald om het risico van doorvergiftiging in de voedselketen te kunnen bepalen. Zagers (*Nereis diversicolor*, *N. virens*) zijn gekozen als toetsdieren voor mariene sedimenten, omdat verontreinigde waterbodem (*i.c.* baggerspecie) meestal zeer slibrijk is en daarmee goed overeenkomt met het natuurlijke sediment waar deze soorten in voorkomen.

Zagers zijn echter vooral predator/aaseter en geen sediment-eter. Uit eerdere studies is gebleken, dat bioaccumulatie van sediment-gebonden contaminanten sterker is als de blootstelling verloopt via de spijsvertering (Weston, 1990; Mayer *et al.*, 1996; Kaag *et al.*, 1997; Weston *et al.*, 2000). Verwacht mag worden dat zagers daarom vooral via het poriewater aan de aanwezige contaminanten worden blootgesteld.

Zeepieren (*Arenicola marina*) zijn obligate, non-selectieve sediment-eters. Zeepieren worden daarom vooral via de spijsvertering blootgesteld aan sediment-gebonden contaminanten en de bioaccumulatie zal daarom sterker gerelateerd zijn aan het totaal gehalte in sediment dan aan het gehalte in poriewater.

Zeepieren komen van nature echter in meer zandige sedimenten voor en zijn daarom minder geschikt als toetsdier voor slibrijke sedimenten. Om een realistische inschatting te kunnen maken van het doorvergiftigingsrisico van sediment-gebonden contaminanten is het echter wel noodzakelijk om te weten of en in hoeverre, er een duidelijk verschil in bioaccumulatie is tussen soorten met een verschillende levenswijze.

Doel van het onderzoek is de bioaccumulatie te vergelijken van deze twee sedimentbewonende mariene polychaeten. In het kader van een uitgebreide studie naar het actuele risico van dioxine verontreiniging in het Noordzeekanaal, is de zager (*Nereis virens*) ingezet om het risico van doorvergiftiging te bepalen bij een selectie van de monsters. Parallel zijn in een deel van de monsters ook analyses van het dioxine-gehalte in sediment en snel desorberend gehalte uitgevoerd, alsmede analyses met DR-CALUX. In een klein deel van de monsters is ook het gehalte PAK, PCB en metalen geanalyseerd.

Ter vergelijking zijn ook zeepieren blootgesteld aan een aantal van de monsters waaraan de zagers werden blootgesteld. In dit rapport wordt de bioaccumulatie in zagers en zeepieren met elkaar vergeleken en bediscussieerd in relatie tot de gehalte in totaal sediment en snel desorberende fractie.

2. Materiaal & Methoden

2.1 Algemeen

De sedimentmonsters waren afkomstig uit het Noordzeekanaal, omgeving Jan van Riebeeckhaven. Op alle monsters werd het gehalte aan dioxine bepaald door middel van een DR CALUX analyse. De DR-CALUX analyses werden uitgevoerd door BDS in Amsterdam volgens de procedure die ook voor CTT-analyses wordt toegepast. Aan de hand van de resultaten van de DR CALUX analyse werden selecties gemaakt voor de blootstelling van de sedimenten aan zagers en zeepieren en voor de chemische analyses. De geselecteerde monsters bestrijken uiteindelijk DR-CALUX resultaten tussen 100 en 9000 ng TEQ. De redenen voor de verschillen in aantallen geanalyseerde monsters waren gebaseerd op kosten, verwachting en pragmatisme. In Tabel 1 worden de aantallen monsters geanalyseerd voor de verschillende chemische groepen en de verschillende matrices weergegeven.

Tabel 1 *Overzicht van de aantallen monsters geanalyseerd in verschillende matrices voor de verschillende chemische analyses.*

Matrix		Dioxine	PAK	PCB	Metalen
SnelSed	Snel desorberend gehalte in sediment cq. poriewater concentratie van metalen	54	29	29	12
TotSed	Totaal sediment concentratie	12	12	12	12
Zager	<i>Nereis virens</i> weefsel concentratie	54	29	29	10
Zeepier	<i>Arenicola marina</i> weefsel concentratie	13	9	9	7

Binnen het project werden verschillende technieken toegepast voor de sediment bemonsteringen. Zo werd er voor de chemische analyses een steekbuis gebruikt, zodat een ongestoord en ongemengd monster verkregen werd en voor de bioaccumulatietesten werd een boorpijp gebruikt die op dezelfde plek de bodem ingetrild werd. Alle monsters werden na bemonstering koel bewaard (ca. 4°C) tot verdere verwerking voor analyse.

2.2 Accumulatietesten

Accumulatietesten werden uitgevoerd door TNO Bouw & Ondergrond, Expertiseteam Kwaliteit Watersystemen te Den Helder.

2.2.1 *Nereis virens*

Zagers werden betrokken van een kweker (Topsy Bait) en na ontvangst één nacht geacclimatiseerd in stromend water. Zagers werden blootgesteld in 1 L bekers met 400 ml sediment en 500 ml water. In elk bekersglas werden 5 zagers ingezet en elk sediment werd in vijfvoud getest. De testsystemen werden continu zachtjes

belucht. Gedurende de test werden de zagers wekelijks bijgevoerd met een beetje gemalen visvoer en werd verdampt water aangevuld met demiwater.

Na 28 dagen werd de test afgebroken door de testsystemen uit te spoelen over een zeef. De zagers werden gedurende de nacht bewaard in schoon zeewater om hun darmen te legen en daarna ingevroren tot analyse.

2.2.2 Arenicola marina

De zeepiëren werden mechanisch verzameld in de Waddenzee en dezelfde dag ondergebracht in referentiesediment op laboratorium. Zeepiëren werden blootgesteld in platte schalen met 3 cm sediment, met 3 cm zeewater erboven. In elke schaal werden 5 zeepiëren ingezet. Afhankelijk van de hoeveelheid beschikbaar testsediment werd de test in enkelvoud, of in duplo uitgevoerd. Gedurende de test werden de systemen zachtjes belucht en werd verdampt water aangevuld met demiwater.

Na 28 dagen werd de test afgebroken door de testsystemen uit te spoelen over een zeef. De zeepiëren werden gedurende de nacht bewaard in schoon zeewater om hun darmen te legen en daarna ingevroren tot analyse.

2.3 Chemische analyses

Chemische analyses werden uitgevoerd door TNO Bouw & Ondergrond, Expertiseteam Milieuanalyse en Emissies te Apeldoorn.

2.3.1 Organische componenten

Het snel desorberend gehalte van organische componenten in sediment werd geïsoleerd door extractie met XAD2 desorbens. Hiertoe werd aan 50gr nat sediment, 25gr natte XAD2 en 300 ml 0,01 M CaCl₂-oplossing toegevoegd, waarna het mengsel gedurende 24u gemengd werd op een rollenbank in een 1 L fles. Na 24u werd 650 ml NaCl-oplossing (150 g/L) toegevoegd (uitzouten), waardoor de XAD2 wordt geïsoleerd en kan worden gewassen met milli-Q op een zeef. De XAD2 werd daarna in een glasvezelhuls aan de lucht gedroogd. Na additie van interne kwantificeringsstandaarden werd de XAD2 geëxtraheerd met een mengsel van hexaan/acetone (1:1) gedurende 16 uur.

Voor extractie totaal sediment werd aan 5 g nat sediment, 10 g watervrij natriumsulfaat toegevoegd. Na 2 u conditioneren werden de monsters gespiked met interne standaarden. Organische componenten in totaal sediment werden geïsoleerd door Soxhlet extractie (16 uur) met een mengsel van hexaan/acetone (1:1). Weefselmonsters werden geëxtraheerd door toevoeging van 60 g watervrij natriumsulfaat aan 20 g vers weefsel. Na 2 uur conditioneren werden de monsters

gespiked met interne standaarden. De organische componenten werden geëxtraheerd door Soxhlet-extractie gedurende 16 uur met een mengsel van hexaan/aceton (1:1).

In de extracten werd dioxine bepaald volgens TNO-werkvoorschrift ORG-120. Dit betreft een zuivering van het extract over een multi-layer (silica) kolom en over een aluminiumoxide kolom. De bepaling van PCB en PAK verloopt via zuivering over geactiveerde silica (3 g). Het eluaat wordt droog gedampt en opgenomen in een recovery standaard. Dioxine in de extracten is geanalyseerd op GC-HRMS t.o.v. een externe standaard PCDD/F. PAK en PCB in de extracten is geanalyseerd op GC-MS t.o.v. interne standaarden. De componenten zijn gekwantificeerd op basis van interne standaarden, zg. isotoop verdunning.

2.3.2 Metalen

Metalen in poriewater zijn geïsoleerd door centrifuge van 50 g nat sediment gedurende 2 minuten bij 3000 rpm. Met een PE pipet is 5 ml poriewater afgenomen en gefilterd over een 0,45 µm filter. Na filtratie is het monster over een Chelex-kolom geleid (0,4 g natte Chelex 100) waarbij vrije metaal-ionen worden geadsorbeerd. De contacttijd met de Chelex is beperkt tot 2 sec om verschuiving van het evenwicht te voorkomen. De vrije metaal-ionen zijn vervolgens van de kolom geëluëerd met 2,5 ml 2M ultra-pure salpeterzuur. De eluaten zijn geanalyseerd met ICP-MS.

Metaal in totaal sediment en weefsel is geëxtraheerd door na drogen salpeterzuur toe te voegen. Het extract is geanalyseerd op ICP-MS.

Metaalgehalten zijn gekwantificeerd op basis van externe standaarden.

2.3.3 Statistiek

De analyseresultaten zijn op twee manieren statistische getoetst, respectievelijk Wilcoxon's Signed Ranks test en de Pearson's Correlatie toets.

Wilcoxon's Signed Ranks toets

In deze non-parametrische toets worden de absolute verschillen tussen de gepaarde variabelen op rangorde verdeeld (Sokal & Rohlf, 1995). Vervolgens worden de rangnummers verdeeld naar de twee variabelen en de rangnummers opgeteld.

Toetsing van de rangtoets wordt uitgevoerd door middel van een significantietoets waarbij de p-waarde (two-tailed) wordt uitgedrukt.

Pearson's Correlatie toets

Een correlatie of covariantie toets geeft aan hoe de concentratie X zich verhoudt ten opzichte van een concentratie Y. Voor het bepalen van de correlaties van de monsters in verschillende matrices voor verschillende stoffen is onderzocht of de data normaal verdeeld waren. Dit werd uitgevoerd middels een Kolmogorov-

Smirnov Normality test. Hieruit bleek dat niet alle gegevens normaal verdeeld waren en dus werd alle data log-getransformeerd, zodat normale verdeling bereikt werd.

Vervolgens zijn de correlaties van de monsters getoetst met behulp van Pearsons's correlatie test. Voor elke chemische analyse werden de volgende metingen getoetst op correlatie:

- TotSed vs SnelSed
- TotSed vs Zager
- TotSed vs Zeepier
- SnelSed vs Zager
- SnelSed vs Zeepier
- Zager vs Zeepier

De DR-CALUX resultaten werden tevens gecorreleerd met bovengenoemde matrices.

De relatie tussen de gemeten sedimentconcentraties (totaal sediment en snel desorberend gehalte) en de concentraties geaccumuleerd in weefsel (zager en zeepier) wordt weergegeven door middel van lineaire regressie, waarbij de helling en het snijpunt met de x-as berekend zijn. De helling heeft aan hoeveel extra accumulatie verwacht kan worden bij toenemend gehalte in het sediment.

3. Resultaten

3.1 Organische componenten

3.1.1 Dioxinen

Dioxinen zijn onder te verdelen in twee klassen:

- Polygechloreerde dibenzo-p-dioxinen (PCDD)
- Polygechloreerde dibenzofuranen (PCDF).

De 17 dioxines die het meest giftig zijn, hebben een chlooratoom op de posities 2,3,7,8. Het giftigste dioxine is 2,3,7,8-TCDD (2,3,7,8-tetrachloordibenzo-p-dioxine). Deze 17 dioxine-congeneren zijn in dit project geanalyseerd.

De resultaten van de dioxine analyses zijn samengevat in Tabel 2. Het betreft hier de som van de gemeten dioxine-congeneren in toxiciteits-equivalenten ten opzichte van 2,3,7,8-TCDD (WHO-TEQ), omdat deze te vergelijken zijn met de resultaten van de DR CALUX assay die alleen een somparameter geeft (TEQ-waarde). De WHO-TEQ in sediment, snel desorberend gehalte en weefsels van zager (*N. virens*) en zeepier (*A. marina*) wordt gedomineerd door de dioxine-congeneren 2,3,7,8-TCDD en 2,3,4,7,8-PCDF.

Tabel 2 Dioxine concentraties (als TCDD TEQ in DR-Calux, en WHO-TEQ voor de andere analyses),

TNO	DR Calux (ng/kg ds)	TotSed (ng/kg ds)	SnelSed (ng/kg ds)	Concentratie A. marina (ng/kg ds)	Concentratie N. virens (ng/kg ds)	Ratio Am/Nv	Sediment type
45	131	-	15,2	139	149	0,94	slib
23	3515	458	20,6	1365	1007	1,36	slib?
28	880	973	62,8	292	294	1,50	slib
22	925	761	54,8	268	175	1,53	slib
20	251	-	10,2	51	33	1,57	slib
16	921	734	21,0	542	225	2,41	slib
36	501	372	19,0	161	613	0,26	medium
139	697	-	35,4	204	338	0,60	medium
73	908	178	7,28	888	261	3,40	medium
50	176	-	18,6	1152	659	1,75	zandig
74	1110	1292	229	4459	2530	1,76	zandig
77	8829	306	20,4	11922	4733	2,52	zandig
135	252	-	7,9	884	326	2,71	zandig

De DR Calux analyse is niet significant gecorreleerd met het dioxinegehalte in sediment, noch met het snel desorberend gehalte. Het snel desorberend gehalte is wel positief gecorreleerd met het totaal dioxine gehalte in sediment (Tabel 3). De accumulatie van dioxine in zager en zeepier is positief gecorreleerd met de DR-Calux. De helling van de regressievergelijking is voor de zeepier veel steiler dan

voor de zager (Table 4). Er is geen significante correlatie met het totaal gehalte in sediment, of het snel desorberend dioxine gehalte.

Tabel 3 Resultaten van de correlatieberekeningen Data log-getransformeerd.

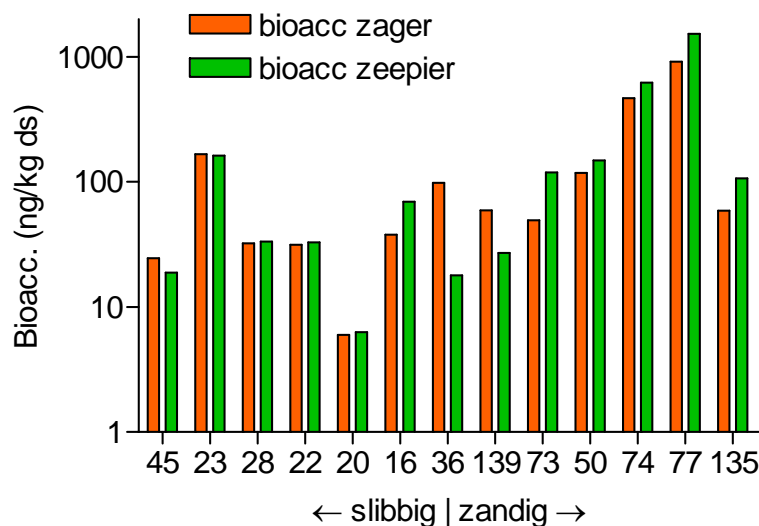
Analyse	n	Pearson r	95% CI	significantie
Dr-Calux TotSed	8	-0,251	-0,812 - 0,551	0,5485ns
Dr-Calux SnelSed	13	0,279	-0,321 - 0,720	0,3555ns
Dr-Calux A. marina	13	0,653	0,159 - 0,885	0,0156*
Dr-Calux N. Virens	54	0,814	0,698 - 0,888	<0,0001***
TotSed SnelSed	8	0,898	0,528 - 0,982	0,0024**
TotSed A. marina	8	-0,105	-0,754 - 0,648	0,8048ns
TotSed N. Virens	8	-0,081	-0,744 - 0,661	0,8483ns
SnelSed A. marina	13	0,247	-0,352 - 0,703	0,4159ns
SnelSed N. Virens	13	0,369	-0,229 - 0,765	0,2147ns
Wilcoxon's matched pairs A. marina N. virens	n 13	Som Am>Nv 71	Som Am<Nv 20	$\alpha=0,040^*$

Table 4 Hellingshoek en snijpunt met de Y-as (Y) voor gehalten in zager en zeepier ten opzichte van totaal gehalte en snel desorberend gehalte van PAK in sediment. Originele data.

	N. virens		A. marina	
	helling	Y	helling	Y
DR-CALUX	0,509	20	1,251	-120
TotSed	0,018	969	-1,495	3435
SnelSed	9,305	205	11,544	1253

Het dioxine gehalte in de zeepier is significant hoger dan in de zager (Wilcoxon signed rank test, $\alpha<0,05$). Slechts bij 3 van de 13 monsters vertoonde de zager een hoger dioxine gehalte dan de zeepier.

De relatieve accumulatie lijkt niet duidelijk aan de sedimentstructuur gerelateerd (zie Figuur 1). Het verschil tussen zeepier en zager lijkt wat groter op zandige sedimenten dan op slib, maar juist de extremen (monster 36 en monster 73) worden gekarakteriseerd door zowel een sterke slibfractie, als een duidelijke zandfractie (Figuur 7). Het sediment van monster 73 bevat een kleine fractie (4%) $>500 \mu\text{m}$, die in 36 ontbreekt.



Figuur 1 Accumulatie van dioxinen door zager (oranje) en zeepier (groen) uitgedrukt in ng WHO-TEQ/kg ds. Op x-as monsternummer en grove indicatie sedimentstructuur.

3.1.2 PAK

Voor de meeste PAK zijn significante correlaties tussen totaal sediment gehalte en snel desorberend gehalte gevonden (Tabel 5 en Tabel 9). De interpretatie van de correlaties tussen organismen en gehalten is lastig door het verschil in aantal geanalyseerde monsters.

- De zager vertoont een significante correlatie met het snel desorberend gehalte van 12 verschillende soorten PAK (29 monsters) en met het totaal sediment gehalte van 5 soorten PAK (10 monsters).
- De zeepier vertoont alleen een significante correlatie met het snel desorberend gehalte van fluoranteen (9 monsters) en het totaal gehalte van 4 verschillende soorten PAK (7 monsters).

Tabel 5 Overzicht resultaten correlatie berekeningen (log-getransformeerde data) en rangtoets PAK.

PAK	TotSed vs SnelSed	organisme	TotSed vs organisme	SnelSed vs organisme	Wilcoxon's signed ranking
Acenafteen	0,631*	N. virens	-0,027ns	0,539**	Nv > Am
		A. marina	0,759*	0,532ns	
Acenaftyleen	0,890***	N. virens	0,174ns	0,089ns	Am > Nv
		A. marina	-0,586ns	-0,490ns	
Antraceen	0,385ns	N. virens	-0,001ns	0,638***	Am > Nv
		A. marina	0,126ns	0,556ns	
Benzo(a)antraceen	0,639*	N. virens	0,549ns	0,527**	Am > Nv
		A. marina	0,738ns	0,490ns	
Benzo(a)pyreen	0,735**	N. virens	0,688*	0,104ns	Am > Nv
		A. marina	0,781*	0,232ns	
Benzo(b)fluoranteen	0,679*	N. virens	0,694*	0,628***	Am > Nv
		A. marina	0,688ns	0,438ns	
Benzo(ghi)peryleen	0,736**	N. virens	0,446ns	0,370*	Am > Nv
		A. marina	0,629ns	0,285ns	
Benzo(k)fluoranteen	0,778**	N. virens	0,601ns	0,550**	Am > Nv
		A. marina	0,677ns	0,397ns	
Chryseen	0,682*	N. virens	0,668*	0,659***	Am > Nv
		A. marina	0,738ns	0,565ns	
Dibenzo(ah)antraceen	0,856***	N. virens	0,133ns	0,045ns	ns
		A. marina	0,752ns	0,556ns	
Fenantreen	0,565ns	N. virens	0,099ns	0,482**	Am > Nv
		A. marina	0,545ns	-0,178ns	
Fluoreen	0,757ns	N. virens	-0,304ns	0,495**	ns
		A. marina	-0,277ns	-0,248ns	
Fluoranteen	0,662*	N. virens	0,764*	0,732***	Am > Nv
		A. marina	0,791*	0,734*	
Indenopyreen	0,766**	N. virens	0,492ns	0,444*	Am > Nv
		A. marina	0,695ns	0,452ns	
Naftaleen	0,121ns	N. virens	0,095ns	-0,029ns	ns
		A. marina	0,544ns	0,278ns	
Pyreen	0,732**	N. virens	0,763*	0,699***	Am > Nv
		A. marina	0,817*	0,520ns	

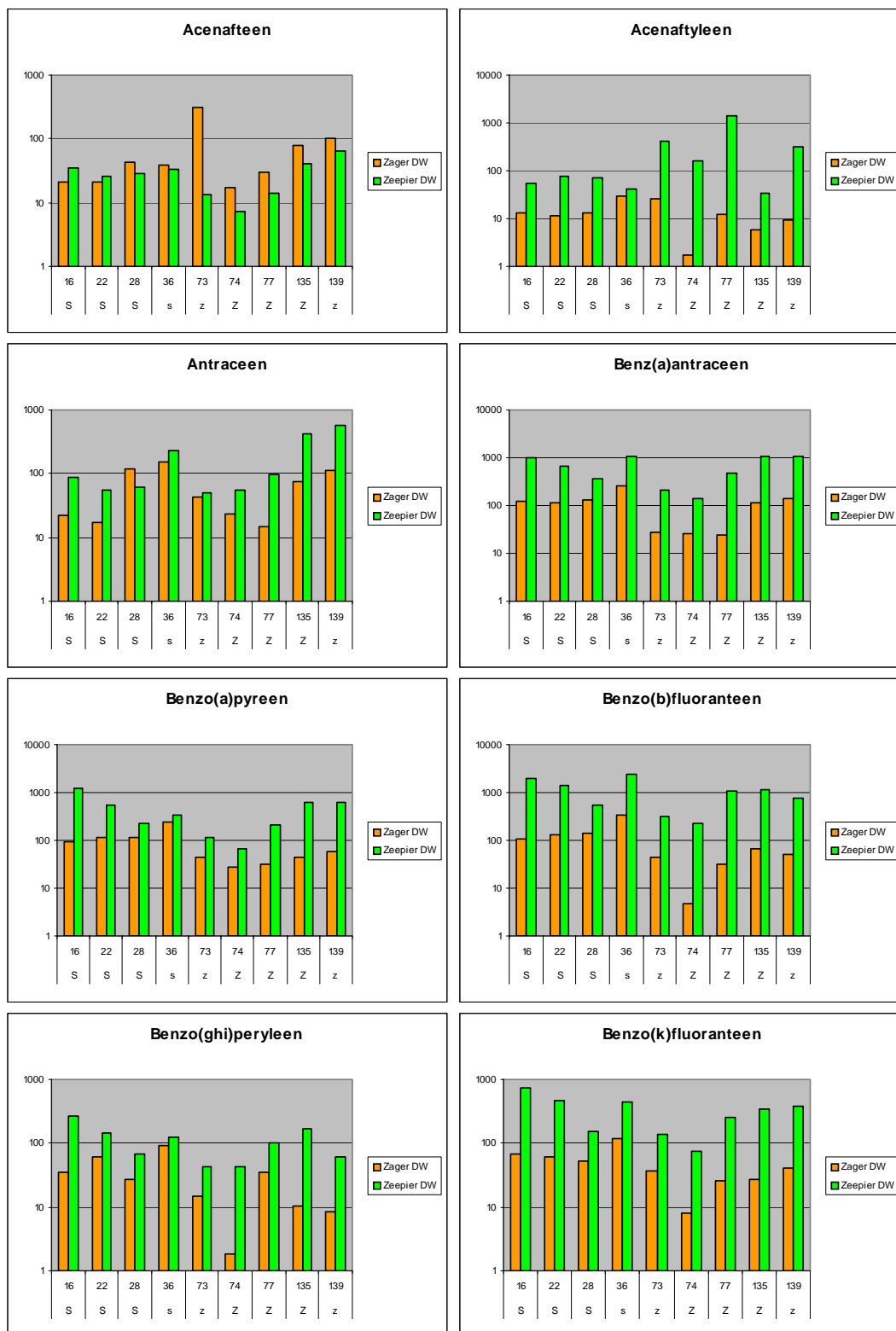
De helling van de regressievergelijking is voor de zeepier bij vrijwel alle PAK hoger dan die van de zager (Tabel 6). Ditzelfde geldt voor de helling van de regressievergelijking van gehalte in zeepier ten opzichte van het snel desorberend gehalte, al zijn de verschillen hier wat minder groot en is bij acenafteen, chryseen en pyreen de helling voor de zager steiler. Bij de zeepier is de helling ten opzichte van totaal sediment over het algemeen steiler dan de helling ten opzichte van het snel desorberend gehalte. Bij de zager is het meestal andersom.

Tabel 6 *Hellingshoek en snijpunt met de Y-as (Y) voor gehalten in zager(N. virens) en zeepier (A. marina) ten opzichte van totaal gehalte en snel desorberend gehalte van PAK in sediment. Originele data.*

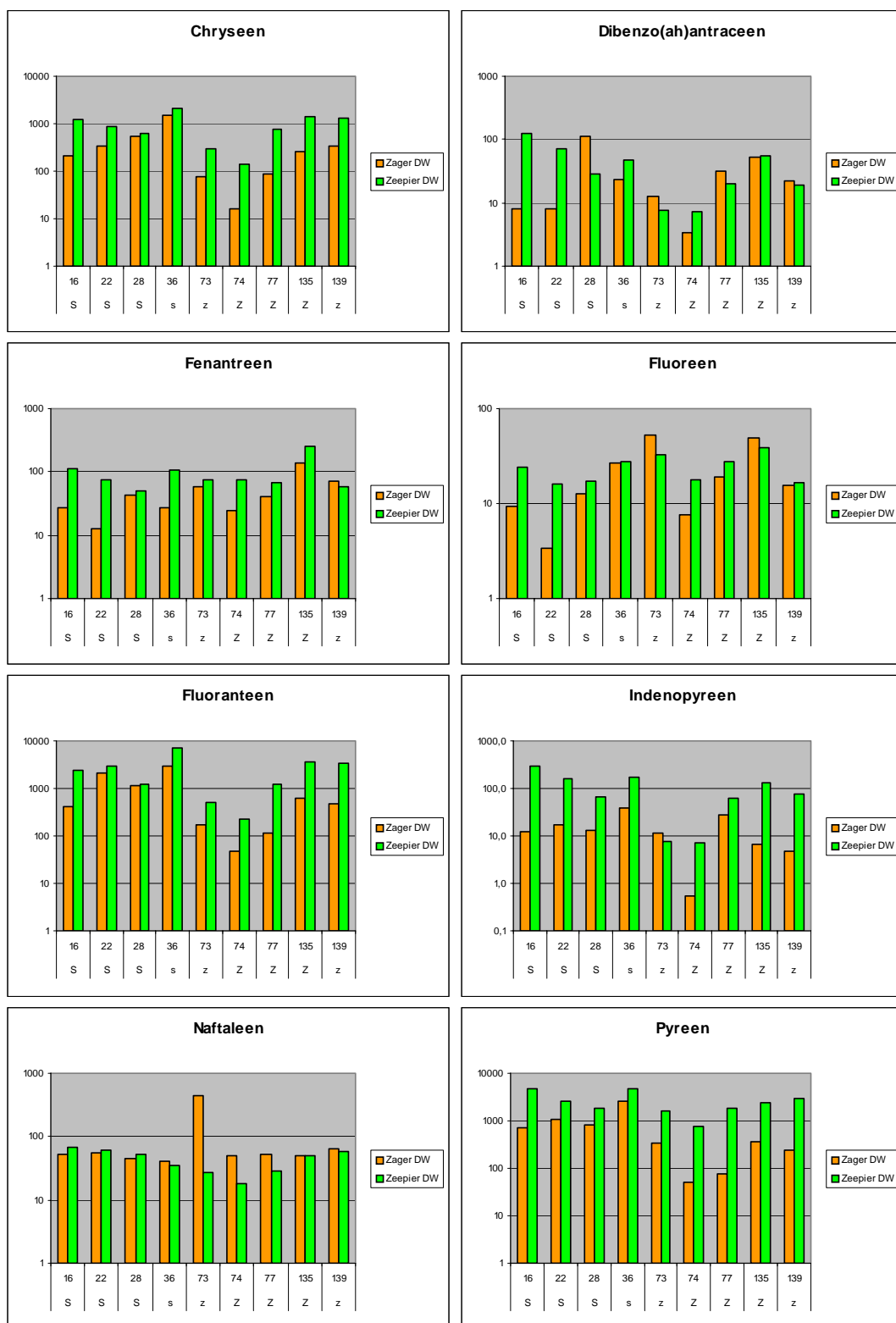
Sediment	Totaal gehalte				Snel desorberend gehalte			
	N. virens		A. marina		N. virens		A. marina	
	helling	Y	helling	Y	helling	Y	helling	Y
Acenafteen	-0,034	67	0,010	20	0,524	74	0,141	23
Acenaftyleen	-0,002	15	-0,351	370	-0,056	14	-28,070	399
Antraceen	-0,013	54	0,045	85	0,018	39	0,559	106
Benzo(a)antraceen	0,041	70	0,827	257	0,077	77	0,133	640
Benzo(a)pyreen	0,033	69	0,769	50	0,141	84	0,208	422
Benzo(b)fluoranteen	0,031	81	1,064	455	0,187	57	0,621	988
Benzo(ghi)peryleen	-0,022	84	0,242	42	0,348	27	0,483	105
Benzo(k)fluoranteen	0,032	41	0,899	104	0,176	27	0,289	312
Chryseen	0,120	259	0,825	454	0,331	188	0,220	889
Dibenz(ah)antraceen	-0,002	29	0,297	12	0,435	20	3,596	29
Fenantreen	0,013	39	0,080	60	0,031	62	-0,453	115
Fluoreen	-0,053	26	-0,033	27	0,020	19	-0,080	26
Fluoranteen	0,340	522	1,840	805	0,205	640	0,322	2104
Indenopyreen	0,005	22	0,370	3	0,208	10	1,621	87
Naftaleen	-0,023	100	0,014	38	-0,247	79	0,190	35
Pyreen	0,217	485	1,677	1241	0,141	379	0,036	2546

Over het algemeen zijn de PAK gehalten in de zeepier duidelijk hoger dan in de zager (Figuur 3). Voor de meeste PAK is dit verschil significant (Wilcoxon's signed ranking test, Tabel 5). Alleen voor acenafteen is het juist de zager die significant sterker accumuleert. Voor naftaleen, dibenzo(a,h)antraceen en fluoreen is het verschil niet significant, doordat er niet alle monsters hetzelfde resultaat opleveren en het aantal monsters laag is.

Er lijkt geen relatie te zijn tussen het verschil in accumulatie bij zeepier en zager enerzijds en de structuur van het sediment anderzijds. Echter, er is een grote kans dat een eventuele aanwezige relatie overruled wordt door de verschillen in metabolisme van de organismen. Zo kan een zager PAK beter afbreken dan een zeepier (Kane Driscoll & McElroy, 1996; Christensen *et al.*, 2002; Jorgensen *et al.*, 2005).



Figuur 2a PAK gehalten in zager (oranje) en zeepier (groen) in mg/kg ds. Op x-as monsternummer en indicatie sedimentstructuur: S:slib; Z:zand; s:SZ zonder fractie > 500 μm; z:SZ met fractie > 500 μm.



Figuur 3b PAK gehalten in zager (oranje) en zeepier (groen) in mg/kg ds. Op x-as monsternummer en indicatie sedimentstructuur: S:slib; Z:zand; s:SZ zonder fractie > 500µm; z:SZ met fractie > 500µm.

3.1.3 PCB

Over het algemeen zijn de gemeten PCB gehalten laag. Alleen voor monster 22 is de somPCB hoger dan de CTT-grenswaarde van 100 µg/kg ds. Voor alle geanalyseerde PCB is de correlatie tussen totaal gehalte en snel desorberend gehalte significant (Tabel 7).

Ook voor PCB is de interpretatie van de correlaties tussen organismen en gehalten is lastig door het verschil in aantal geanalyseerde monsters. Het gehalte in de zagers correleert niet significant met het totaal gehalte (n=10), maar voor 5 van de 7 PCB wel met het snel desorberend gehalte (n=28). Het gehalte in de zeepieren correleert significant met zowel het totaal gehalte (n=7) als het snel desorberend gehalte (n=9) van PCB138, maar niet met de andere PCB.

Tabel 7 Overzicht resultaten correlatie berekeningen (log-getransformeerde data) en rangtoets PCB.

	TotSed vs SnelSed	Organisme	TotSed vs organisme	SnelSed vs organisme	Wilcoxon's signed ranking
PCB 28	0,925***	N. virens	0,294ns	0,441*	Am > Nv
		A. marina	0,274ns	0,203ns	
PCB 52	0,740**	N. virens	0,373ns	0,521**	ns
		A. marina	-0,033ns	0,270	
PCB 101	0,871***	N. virens	0,271ns	0,428*	ns
		A. marina	0,338ns	0,513ns	
PCB 118	0,632*	N. virens	0,303ns	0,609**	ns
		A. marina	0,692ns	0,507ns	
PCB 138	0,908***	N. virens	0,500ns	0,507***	ns
		A. marina	0,921**	0,756*	
PCB 153	0,954**	N. virens	0,469ns	0,320ns	ns
		A. marina	0,656ns	0,502ns	
PCB 180	0,719**	N. virens	0,547ns	0,300ns	ns
		A. marina	0,751ns	0,473ns	

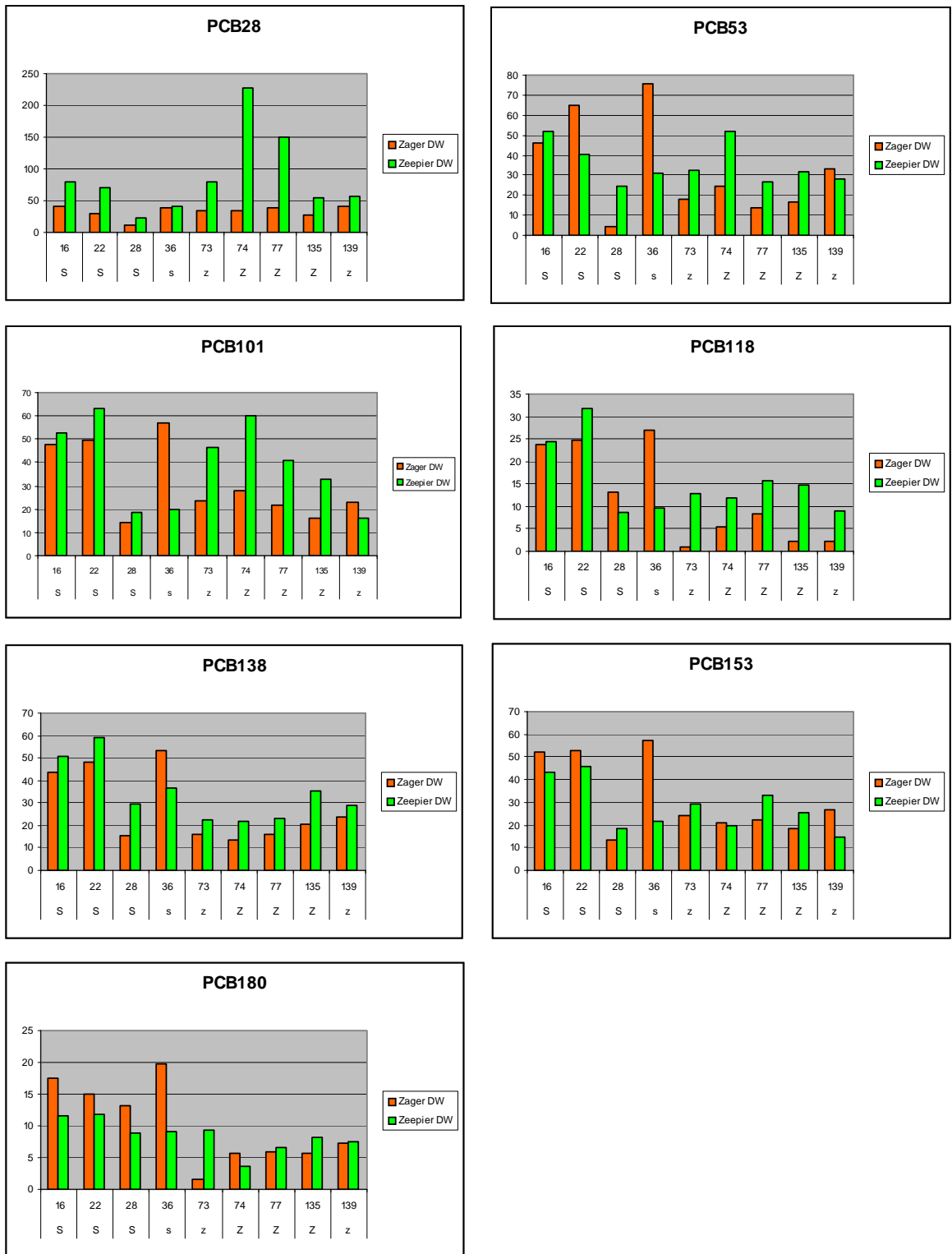
De helling van de regressievergelijkingen van de gehalten in zeepier en zager ten opzichte van totaal sedimentgehalte en snel desorberend gehalte zijn duidelijk positief (m.u.v. PCB52 in zeepier t.o.v. totaal sediment gehalte). De helling is niet eenduidig steiler voor zeepier of zager ten opzichte van totaal sediment of snel desorberend gehalte (Tabel 8). Wel is in alle gevallen de helling voor de regressie van wormen ten opzichte van het snel desorberend gehalte, steiler dan ten opzichte van totaal sediment.

Tabel 8 Hellingshoek en snijpunt met de Y-as (Y) voor gehalten in zager en zeepier ten opzichte van totaal gehalte en snel desorberend gehalte van PCB in sediment. Originele data.

Sediment	Totaal gehalte				Snel desorberend gehalte			
	zager		zeepier		zager		zeepier	
	helling	Y	helling	Y	helling	Y	helling	Y
PCB28	0,214	28	1,030	79	0,585	22	1,396	75
PCB52	0,696	21	-0,027	37	1,329	14	0,448	33
PCB101	0,584	23	0,808	36	1,842	16	4,879	28
PCB118	0,178	11	0,755	12	2,697	7	2,760	12
PCB138	0,603	20	1,049	24	4,627	17	7,492	25
PCB153	0,640	24	0,558	24	3,200	17	4,935	22
PCB180	0,721	7	0,438	7	2,416	6	3,053	7

Over het algemeen zijn de PCB gehalten in de zeepier hoger dan in de zager, maar dat geldt niet voor alle monsters (Figuur 4). Alleen bij PCB28 en PCB138 is het gehalte in de zeepier significant hoger (over alle monsters, Wilcoxon matched pairs test) dan in de zager. Voor de andere PCB zijn de verschillen niet significant.

De verschillen tussen de sedimentmonsters lijken gerelateerd te zijn aan de sedimentstructuur. Op zandige sedimenten accumuleren zeepieren over het algemeen beter dan zagers, terwijl op fijne, slibbige monsters zagers soms beter accumuleren (Figuur 4).



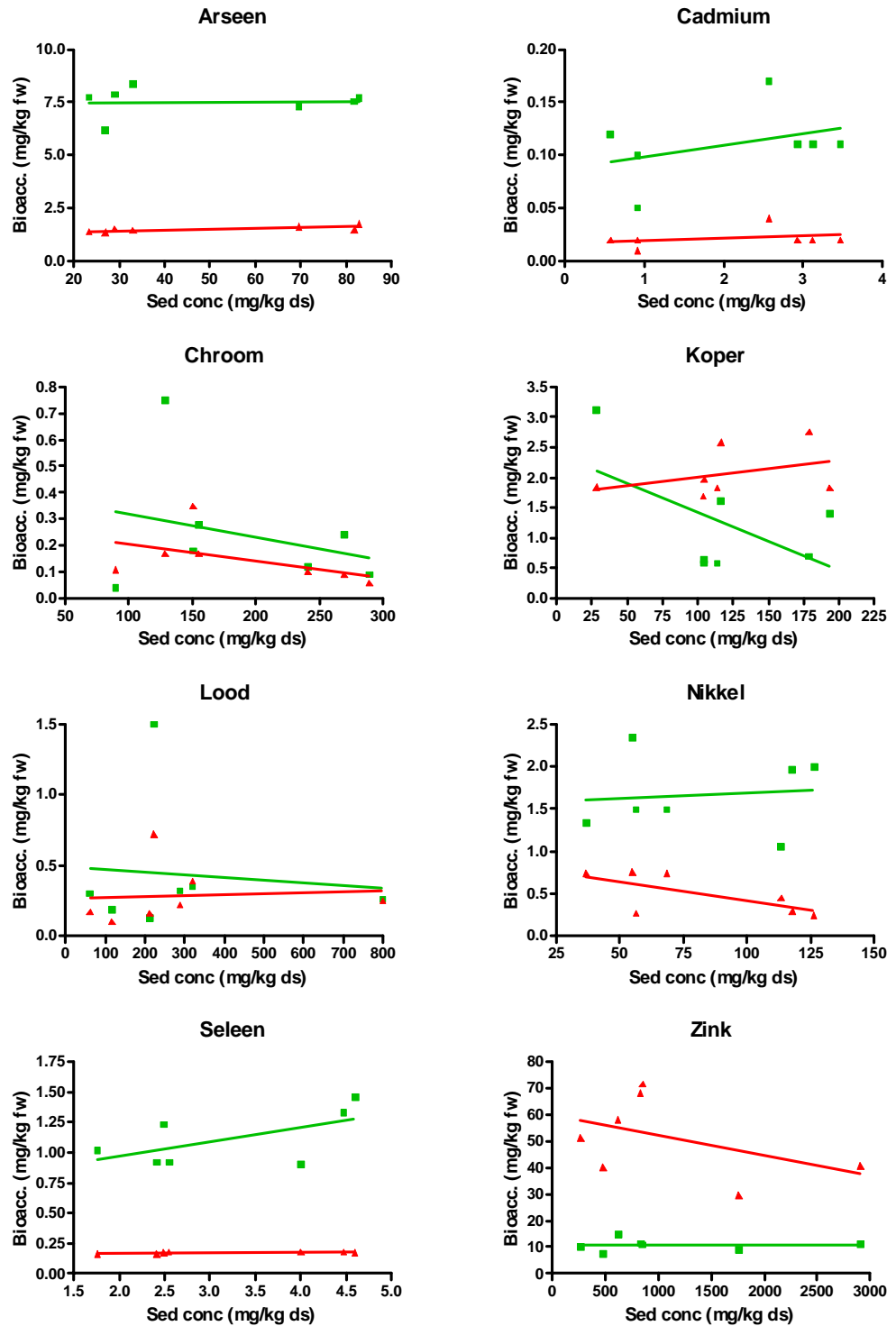
Figuur 4 Accumulatie van PCB door zager (oranje) en zeepier (groen) in mg/kg ds. Op x-as monsternummer en indicatie sedimentstructuur: S:slib; Z:zand; s:SZ zonder fractie > 500µm; z:SZ met fractie > 500µm.

3.2 Metalen

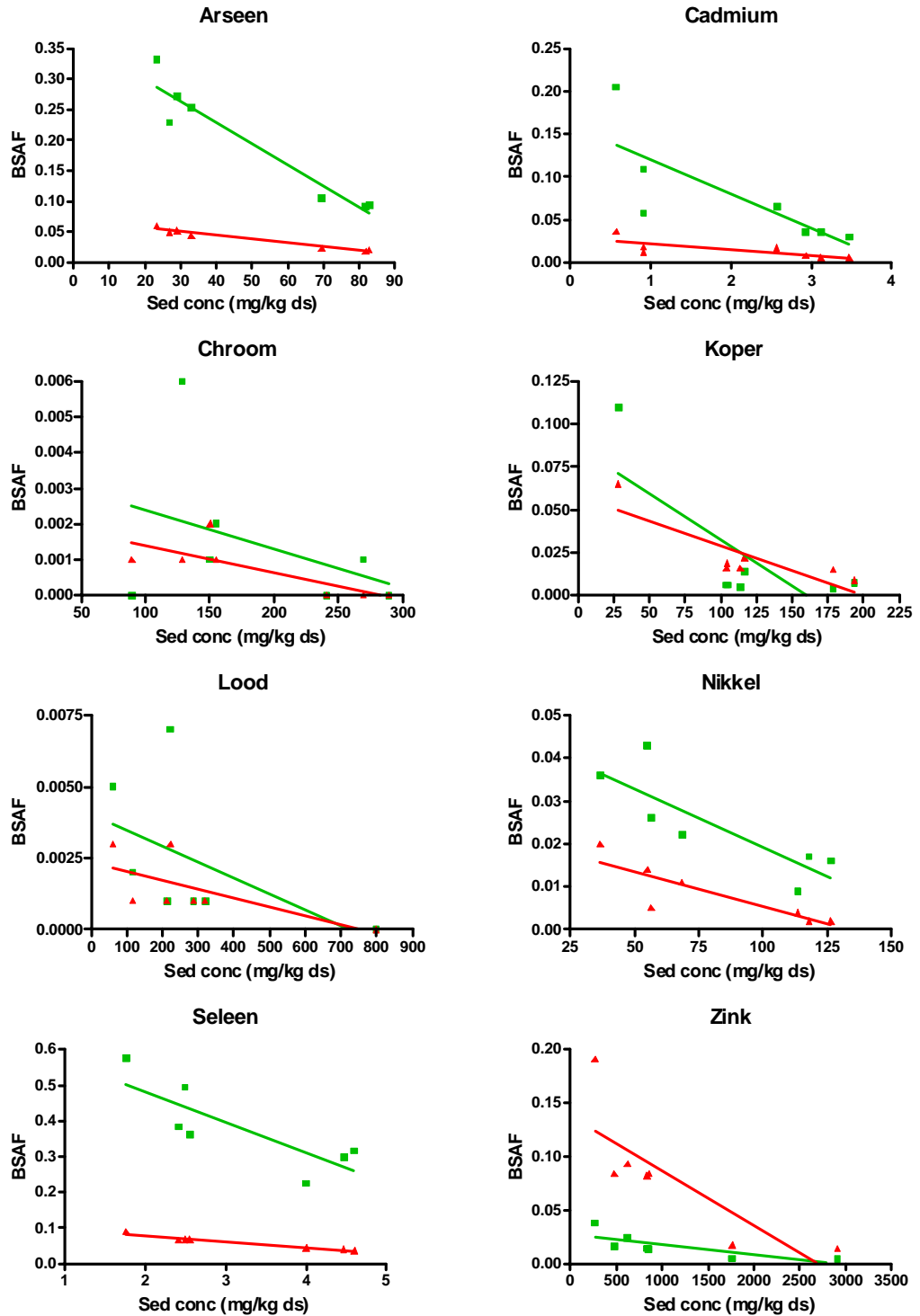
De metaalgehalten in sediment en poriewater zijn over het algemeen laag. Alleen koper, lood en zink komen in enkele monsters voor in gehalten hoger dan de CTT-grenswaarde (uitgedrukt als mg/kg droge stof). De metalen worden niet duidelijk geaccumuleerd. De gemeten verschillen tussen de monsters zijn gering. Wel zijn de gehalten van arseen, cadmium, nikkel en seleen duidelijk hoger in de zeepier dan in de zager. Voor chroom en lood zijn de verschillen tussen beide soorten kleiner. De zager bevat hogere koper en zink gehalten dan de zeepier (zie Figuur 5). Mogelijk waren de geanalyseerde concentraties aan metalen in biota al bij voorbaat aanwezig in de organismen. Deze veronderstelling wordt ondersteund door de relatief lage verhoging aan accumulatie in de organismen bij opletende concentraties aan metalen. In sommige gevallen lijkt er zelfs sprake te zijn van afname van metalen in de biota. Echter, er zijn in dit project geen referentie organismen geanalyseerd op de aanwezigheid van metalen en andere stoffen.

De BSAF waarden zijn in alle gevallen beduidend kleiner dan 1 (relatief ten opzichte van gehalte in sediment uitgedrukt ten opzichte van de fractie $<63\mu\text{m}$, droge stof) en door de geringe verschillen in accumulatie tussen de monsters nemen ze sterk af met toenemend gehalte in het sediment (Figuur 6).

Er zijn nauwelijks significante correlaties tussen de verschillende compartimenten. Alleen het gehalte lood in sediment vertoont een significante correlatie met de concentratie in het poriewater. De accumulatie van de zager is significant gecorreleerd met het totaal sediment gehalten van arseen, chroom en seleen (Tabel 11).



Figuur 5 Grafische weergave van de geaccumuleerde fractie weefsel uitgezet ten opzichte van de sediment concentraties voor metalen. De sediment concentraties zijn gecorrigeerd voor de fractie $<63\mu\text{m}$. ■, *Arenicola marina*; ▲, *Nereis virens*



Figuur 6 Grafische weergave van de BSAF Bioaccumulatiefactor weefsel/sediment uitgezet ten opzichte van de sediment concentraties voor metalen. De sediment concentraties zijn gecorrigeerd voor de fractie <math> < 63\mu\text{m}</math>. ■, *Arenicola marina*; ▲, *Nereis virens*.

4. Discussie

Herkomst monsters en analyse methoden

De monsters waarin de chemische analyses zijn uitgevoerd zijn niet dezelfde als waaraan beide organismen zijn blootgesteld. Alleen de DR-Calux analyse is uitgevoerd op dezelfde monsters als waaraan de organismen werden blootgesteld. De monsters voor de bioassays zijn op een andere manier genomen dan de monsters voor de chemische analyses. Wel op hetzelfde monsterpunt, maar dat levert, door lokale inhomogeniteit van het sediment, niet exact hetzelfde monstermateriaal. De relaties tussen bioaccumulatie en gehalten in sediment en poriewater zijn derhalve voorlopig.

De fractie <63µm is nog weer in andere submonsters geanalyseerd. Deze komen uit dezelfde boring als de monsters voor de bioassays, maar zonder homogenisatie voor subbemonstering. Correctie voor de fractie <63µm in het sediment zou de relatie tussen DR-CALUX en gehalte in de organismen nog sterker maken.

Binnen dit onderzoek zijn geen TOC bepalingen uitgevoerd, evenmin als bepalingen van het asvrij drooggewicht, die als schatting van het totaal organisch materiaal de plaats van TOC in zouden kunnen nemen. Vetgehalten van zeepier en zager zijn wel bepaald, maar omdat de gehalten in de zeepieren vaak te laag waren om te kunnen meten zijn deze verder niet gebruikt om de geaccumuleerde gehalten mee te corrigeren. Het vetgehalte van de zagers varieerde van 1,7% tot 2,7% met een gemiddelde van 2,2%. Het vetgehalte van de zeepieren varieerde van <0,2% tot 1,8%. Vetgehalten van ca. 0,2% tot 1% zijn normaal voor niet-reproducerende zeepieren in het najaar. In de rest van het jaar zijn vetgehalten van 0,7% tot 1,5% normaal (Kaag *et al.*, 1998). De waargenomen vetgehalten zijn dus vrij laag aangezien de bemonsteringen plaats vonden vanaf de winterperiode tot de zomer. Waarschijnlijk wordt dit veroorzaakt doordat de dieren niet, of te weinig eten gedurende de blootstelling. De hoogste vetpercentages werden gevonden in augustus, als de gameten al in ontwikkeling zijn. Gezien de verschillen tussen vetgehalte van zager en zeepier, zou correctie voor vetgehalte betekenen dat de geaccumuleerde gehalten in zeepier, relatief meer verhoogd zouden worden dan die in de zager. Het gehalte van stoffen uitgedrukt ten opzichte van natgewicht heeft verder het voordeel dat de gehalten direct gebruikt kunnen worden voor de bepaling van het risico voor doorvergiftiging (Van Elswijk & Hin, 2002).

Relaties met sediment en 'beschikbare fracties'

De relaties tussen de in zager en zeepier geaccumuleerde gehalten en het totaal gehalte in sediment of het snel desorberend gehalte cq. poriewatergehalte zijn niet eenduidig. Voor sediment hoeft dit ook niet het geval te zijn, aangezien aan sedimentgebonden contaminanten slechts gedeeltelijk beschikbaar zijn. Op basis van het evenwichtspartitie-concept (Di Toro *et al.*, 1991) wordt een dergelijke relatie wel verwacht met de concentratie in poriewater of snel desorberend gehalte

(Cornelissen & Kamerling, 2003). Duidelijk is echter dat niet alleen het poriewater van belang is voor de bioaccumulatie van sedimentgebonden contaminanten. Door manipulatie van het foeragegedrag van het nonnetje kon de opname van sedimentgebonden benzo(a)pyreen beïnvloedt worden (Kaag *et al.*, 1997). Blootstelling via de spijsvertering blijkt dan ook belangrijk te zijn voor aan sediment gebonden contaminanten, omdat de contaminanten worden vrijgemaakt van de sediment-matrix en worden geconcentreerd in het spijsverteringskanaal (Mayer *et al.*, 1996). De mate waarin dit gebeurt, is per soort verschillend. Daarin zit een fylogenetische component (d.w.z. er zijn verschillen tussen soortgroepen), maar het belangrijkste lijkt de manier van eten te zijn, die zorgt voor verschillen in de samenstelling van de spijsverteringsvloeistof in het maagdarmkanaal (Mayer *et al.*, 2001).

De zeepier is een obligate sediment-eter en de samenstelling van de spijsverteringsvloeistof is daarop afgestemd. De zager (i.c. *N. virens*) is vooral een predator/aaseter, maar neemt daarbij ook wel sediment in. Dit wordt gereflecteerd in de spijsverteringsvloeistof, die meer kenmerkend is voor een carnivoor, met trekjes van een sediment-eter (Mayer *et al.*, 1997).

Door het geringe aantal geanalyseerde monsters is de correlatie van de zeepier met het totaal sediment gehalte en het snel desorberend gehalte maar in enkele gevallen significant. Voor de zager worden vaker significante correlaties gevonden. Vooral voor de relatie met het snel desorberend gehalte, waarvan de meeste analyses beschikbaar zijn. Uit de regressievergelijkingen van gehalte in wormen ten opzichte van gehalte in sediment (totaal of snel desorberend) valt af te leiden dat juist bij de zeepier de steilheid van de helling vaak hoger is dan bij de zager. Dat wil zeggen dat bij toenemend gehalte in sediment, het gehalte in de zeepier sterker zal toenemen dan het gehalte in de zager.

Bij PCB is de helling van de regressie tussen gehalte in beide polychaeten en het snel desorberend gehalte altijd steiler dan de helling van de regressie ten opzichte van het totaal sediment gehalte. Dit suggereert dat voor PCB het snel desorberend gehalte een betere schatter is voor de beschikbare fractie dan het totaal sediment gehalte. Bij PAK is dit minder duidelijk. Hier lijkt het totaal sediment gehalte een betere schatter voor de zeepier en het snel desorberend gehalte een betere schatter voor de zager, maar dat is niet voor alle afzonderlijke PAK het geval. De zager lijkt zelfs helemaal niet te reageren op totaal sediment gehalte.

Verschillen tussen zeepier en zager

Er zijn duidelijke verschillen geconstateerd in bioaccumulatie tussen zeepieren en zagers. Het lijkt erop dat de aard van het testsediment een belangrijke rol speelt bij de bioaccumulatie van dioxine en PCB. De zeepier accumuleert deze het sterkst op de meer zandige monsters, terwijl de zager sterker lijkt te accumuleren op slibrijke sedimenten. Dit leidt ertoe dat juist op de meer zandige sedimenten de

bioaccumulatie in de zeepieren sterker is dan in de zagers, terwijl het op de meest slibbige monsters juist omgekeerd kan zijn.

De relatie met sedimentsamenstelling is op dit moment niet nader te specificeren, vanwege het geringe aantal monsters dat is onderzocht. Het is echter niet onwaarschijnlijk dat dit te maken heeft met de mogelijkheid die de zeepier heeft om te kunnen eten. Gewoonlijk eet de zeepier het sediment door van onder uit zijn woonbuis water door het sediment (zand!) omhoog te persen, waardoor het sediment 'vloeibaar' wordt en naar beneden zakt (Baumfalk, 1979a&b; Rijken, 1979). Als het sediment te slap is (slib), of sterk plakt (klei) zal dit niet kunnen en heeft de zeepier waarschijnlijk problemen met eten. Dit wordt ondersteund door de waarnemingen tijdens de toetsen. Op de zandige sedimenten waren duidelijke feces hoopjes te vinden, die er op wijzen dat de dieren actief aan het foerageren waren. Op de meer slibbige en kleiige sedimenten daarentegen, werden geen hoopjes gezien, hooguit een enkel sliertje. Er waren alleen gaten zichtbaar. Dat de zeepieren desondanks zeer mager waren (laag vetpercentage), ook op de zandige sedimenten heeft waarschijnlijk te maken met de lage voedingswaarde van deze sedimenten. Het vetgehalte van zagers is beter op peil gebleven, omdat deze dieren werden bijgevoerd en ze bovendien van nature thuishoren in slibrijke sedimenten.

Het kunnen eten van het sediment heeft echter consequenties voor het kunnen accumuleren van contaminanten, aangezien de spijsvertering een belangrijke route kan zijn voor sedimentgebonden contaminanten (Mayer *et al.*, 1996).

De duidelijk sterkere bioaccumulatie van de meeste organische contaminanten door de zeepier op de zandige sedimenten kan daarmee verklaard worden uit het feit dat de zeepier actief eet van deze sedimenten. Daar waar niet actief gegeten wordt is de blootstelling via de spijsvertering minimaal. In die gevallen komt de bioaccumulatie overeen met de zager, of is ze zelfs slechter indien de slibbige sedimenten voor de zager wel als voedselbron te benutten zijn.

Opname van PAK door organismen vindt voornamelijk plaats via het voedsel en een marginale hoeveelheid wordt via de huid (dermaal) opgenomen. De PAK die via het voedsel binnenkomen, komen in het maagdarmkanaal terecht. Een deel van de PAK wordt hier gemetaboliseerd, een ander deel wordt opgenomen in lymfe en bloed, waarna een snelle verdere verspreiding naar de weefsels plaatsvindt. In deze weefsels vindt vervolgens metabolisering of accumulatie (vooral in vet- en klierweefsel) plaats. De snelheid van metabolisme en/of accumulatie is afhankelijk van het organisme. Zo zie je een duidelijk verschil in gemeten PAK concentraties in de zeepier en de zager. Dit wordt waarschijnlijk mede veroorzaakt doordat de zager veel beter in staat is PAK te metaboliseren dan de zeepier (Kane Driscoll & McElroy, 1996; Christensen *et al.*, 2002; Jorgensen *et al.*, 2005). Mede daarom wordt deze soort ongeschikt geacht om voor studies naar de biologische beschikbaarheid van PAK (Rust *et al.*, 2004).

5. Conclusies en aanbevelingen

Totaal sediment vs snel desorberend gehalte

De steilere helling van de regressievergelijkingen suggereert dat bij PCB en dioxines het snel desorberend gehalte beter aan bioaccumulatie is gerelateerd dan het totaal gehalte, ook al is de correlatie niet altijd significant. Aan de andere kant is bij dioxine de bioaccumulatie van zowel zager als zeepier juist heel significant gecorreleerd met de DR-CALUX respons. Dit was een onverwacht resultaat, aangezien de DR-CALUX een totaal gehalte is. Mogelijk speelt hier de homogene herkomst en ouderdom van de dioxine verontreiniging in het gebied een rol (Philips Duphar 1963). Dit zou geverifieerd kunnen worden door sedimentmonsters uit andere gebieden met een hoge DR-CALUX repons te testen met zager of zeepier.

Bij PAK en metalen zijn deze relaties minder duidelijk.

Zager vs zeepier

Verwachting was dat zager goed zou correleren met het snel desorberend gehalte en de zeepier, als echte sediment-eter, niet. Bij PCB lijkt dit redelijk te kloppen, maar voor PAK en dioxines niet. Voor metalen is het beeld wat minder duidelijk door de relatief geringe accumulatie.

Bij PCB en dioxine speelt de aard van het sediment waarschijnlijk een belangrijke rol bij het verschil in accumulatie bij zager en zeepier. Op slibrijk sediment accumuleert de zager hogere gehalten dan op zandige sedimenten. Bij de zeepier is het juist omgekeerd. Bij PAK en metalen is een dergelijk verband met sedimentstructuur niet gevonden. Wel is duidelijk dat de zager, vanwege zijn metabolisatie capaciteit, geen geschikt organisme is om de beschikbaarheid van PAK in waterbodems te bepalen.

Duidelijk is dat bioaccumulatie mede afhangt van de eigenschappen van de beschouwde biota. Daar waar bioaccumulatie een rol speelt in de ecotoxicologische risicobeoordeling van een gebied dient daar terdege rekening mee gehouden te worden. De keuze van de organismen zou bepaald moeten worden door de aard van de verontreiniging en de verwachte blootstellingsroutes, zodat optimaal gebruik kan worden gemaakt van de ecologische karakteristieken van soorten.

Aanbevelingen

De goede correlatie is tussen DR-CALUX respons en accumulatie zou geverifieerd moeten worden met onderzoek in andere gebieden, zodat duidelijk wordt in hoeverre de gevonden relatie te wijten is aan de lokale omstandigheden, of een meer algemene geldigheid heeft.

Daarbij zou ook aandacht besteedt moeten worden aan andere factoren die een rol spelen bij de opname van organische contaminanten, zoals de sedimentstructuur,

het organisch (kool)stof gehalte en de conditie van de dieren. Voornamelijk de rol van de sedimentstructuur is nog onduidelijk, maar dit lijkt in relatie tot het eetgedrag van de soorten wel belangrijk. Om dit helder te krijgen zijn echter aanzienlijk meer monsters nodig. Ook zou geëxperimenteerd kunnen worden met het manipuleren van sedimentmonsters.

Bij dit onderzoek is ook geen rekening gehouden met het achtergrondgehalte van de verschillende contaminanten in de testdieren, omdat het primair ging om de verschillen tussen de beide soorten aan te geven. Daar waar de feitelijke accumulatie gering lijkt, is het echter belangrijk om te weten met welk achtergrondgehalte de dieren werden ingezet.

6. Literatuur

Baumfalk Y.A. (1979a): On the pumping activity of *Arenicola marina*.
Neth. J. Sea Res. 13(3/4):422-427.

Baumfalk Y.A. (1979b): Heterogeneous grain size distribution in tidal flat sediment caused by bioturbation activity of *Arenicola marina* (Polychaeta).
Neth. J. Sea Res. 13(3/4):428-440.

Christensen M., O. Andersen & G.T. Banta (2002): Metabolism of pyrene by the polychaetes *Nereis diversicolor* and *Arenicola marina*.
Aquat. Toxicol. 58(1-2):15-26.

Cornelissen G. & G.E. Kamerling (2003): Wat Anders?! Ecotoxicologische risico's en Water-Bodem-Normen.
RWS Waterbodems Advies en Uitvoering. Notitie WAU.OWD-3-03013

Di Toro D.M., C.S. Zarba, D.J. Hansen, W.J. Berry, R.C. Swartz, C.E. Cowan, S.P. Pavlou, H.E. Allen, N.A. Thomas & P.R. Paquin (1991): Technical basis for establishing sediment quality criteria for nonionic organic chemicals using equilibrium partitioning.
Environ. Toxicol. Chem. 10:1541-1583.

Jorgensen A., A.M.B. Giessing, L.J. Rasmussen & O. Andersen (2005): Biotransformation of the polycyclic aromatic hydrocarbon pyrene in the marine polychaete *Nereis virens*.
Environ. Toxicol. Chem. 24(11):2796-2805.

Kaag N.H.B.M., E.M. Foekema, M.C.Th. Scholten & N.M. van Straalen (1997): Comparison of contaminant accumulation in three species of marine invertebrates with different feeding habits.
Environ. Toxicol. Chem. 16:837-842.

Kaag N.H.B.M., M.C.Th. Scholten & N.M. van Straalen (1998): Factors affecting PAH residues in the lugworm, *Arenicola marina*, a sediment feeding polychaete.
J. Sea Res. 40:251-261.

Kane Driscoll S. & A.E. McElroy (1996): Bioaccumulation and metabolism of benzo(a)pyrene in three species of polychaete worms.
Environ. Toxicol. Chem. 15:1401-1410.

Mayer L.M., D.P. Weston & M.J. Bock (2001): Benzo[a]pyrene and zinc solubilization by digestive fluids of benthic invertebrates - A cross-phyletic study.
Environ. Toxicol. Chem. 20(9):1890-1900.

Mayer L.M., L.L. Schick, R.F.L. Self, P.A. Jumars, R.H. Findlay, Z. Chen & S. Sampson (1997): Digestive environments of benthic macroinvertebrate guts: enzymes, surfactants and dissolved organic matter.
J. Mar. Res. 55:785-812.

Mayer L.M., Z. Chen, R.H. Findlay, J. Fang, S. Sampson, R.F.L. Self, P.A. Jumars, C. Quétel & O.F.X. Donard (1996): Bioavailability of sedimentary contaminants subject to deposit-feeder digestion.
Environ. Sci. Technol. 30:2641-2645.

Rijken M. (1979): Food and food uptake in *Arenicola marina*.
Neth. J. Sea Res. 13(3/4):406-421.

Rust A.J., R.M. Burgess, B.J. Brownawell & A.E. McElroy (2004): Relationship between metabolism and bioaccumulation of benzo[a]pyrene in benthic invertebrates.
Environ. Toxicol. Chem. 23(11):2587-2593.

Sokal R.R. & F.J. Rohlf (1995): *Biometry*. Third edition.
W.H. Freeman & Co, New York.

Van Elswijk M. & J.A. Hin (2002): Richtlijn nader onderzoek voor waterbodems.
RWS AKWA rapport 01.005 - RIZA nota 2001.052.

Weston D.P. (1990): Hydrocarbon bioaccumulation from contaminated sediment by the deposit-feeding polychaete *Abarenicola pacifica*.
Mar. Biol. 107:159-170.

Weston D.P., D.L. Penry & L.K. Gulmann (2000): The role of ingestion as a route of contaminant bioaccumulation in a deposit-feeding polychaete.
Arch. Environ. Contam. Toxicol. 38(4):446-454.

7. Verantwoording

Naam en adres van de opdrachtgever:

RWS RIKZ
C.A. Schipper
Postbus 8039
4330 EA Middelburg

Namen en functies van de projectmedewerkers:

N.H.B.M. Kaag	Projectleider
A.C. Sneekes	Projectmedewerkster

Namen van instellingen waaraan een deel van het onderzoek is uitbesteed:

BioDetection Systems
Amsterdam

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

April 2005 – Mei 2006

Ondertekening:



N.H.B.M. Kaag
Projectleider

5 juli 2006

Goedgekeurd door:



W. van der Galiën
Teamleider a.i.

5 juli 2006

Bijlage 1 Correlatie berekeningen

Tabel 9 *Overzicht correlatie berekeningen PAK. Data log-getransformeerd. Gehalten op droge stof basis. Gehalten < detectie limiet, gelijkgesteld aan detectie limiet.*

			N	Pearson r	95% confidence interval	P (two-tailed)	Sign
Acenafteen	SnelSed	TotSed	12	0,631	0.089 to 0.885	0,028	*
	SnelSed	Zager	29	0,539	0.215 to 0.756	0,003	**
	SnelSed	Zeepier	9	0,532	-0.204 to 0.884	0,140	ns
	ToTSed	Zager	10	-0,027	-0.646 to 0.613	0,942	ns
	ToTSed	Zeepier	7	0,759	0.014 to 0.962	0,048	*
Acenaftyleen	SnelSed	TotSed	12	0,890	0.647 to 0.969	0,0001	***
	SnelSed	Zager	29	0,089	-0.287 to 0.441	0,645	ns
	SnelSed	Zeepier	9	-0,490	-0.871 to 0.259	0,181	ns
	ToTSed	Zager	10	0,174	-0.512 to 0.725	0,630	ns
	ToTSed	Zeepier	7	-0,586	-0.929 to 0.299	0,167	ns
Antraceen	SnelSed	TotSed	12	0,385	-0.243 to 0.786	0,216	ns
	SnelSed	Zager	29	0,638	0.354 to 0.814	0,0002	***
	SnelSed	Zeepier	9	0,556	-0.172 to 0.891	0,121	ns
	ToTSed	Zager	10	-0,001	-0.630 to 0.629	0,998	ns
	ToTSed	Zeepier	7	0,126	-0.693 to 0.803	0,787	ns
Benzo(a) antraceen	SnelSed	TotSed	12	0,639	0.103 to 0.888	0,025	*
	SnelSed	Zager	29	0,527	0.199 to 0.749	0,003	**
	SnelSed	Zeepier	9	0,490	-0.258 to 0.871	0,180	ns
	ToTSed	Zager	10	0,549	-0.123 to 0.876	0,100	ns
	ToTSed	Zeepier	7	0,738	-0.034 to 0.959	0,058	ns
Benzo(a) pyreen	SnelSed	TotSed	12	0,735	0.278 to 0.921	0,007	**
	SnelSed	Zager	29	0,309	-0.066 to 0.607	0,104	ns
	SnelSed	Zeepier	9	0,443	-0.313 to 0.856	0,232	ns
	ToTSed	Zager	10	0,668	0.065 to 0.913	0,035	*
	ToTSed	Zeepier	7	0,781	0.068 to 0.966	0,038	*
Benzo(b) fluoranteen	SnelSed	TotSed	12	0,679	0.171 to 0.901	0,015	*
	SnelSed	Zager	29	0,628	0.339 to 0.808	0,0003	***
	SnelSed	Zeepier	9	0,438	-0.319 to 0.854	0,239	ns
	ToTSed	Zager	10	0,694	0.114 to 0.921	0,026	*
	ToTSed	Zeepier	7	0,688	-0.135 to 0.949	0,087	ns
Benzo(ghi) peryleen	SnelSed	TotSed	12	0,736	0.281 to 0.921	0,006	**
	SnelSed	Zager	29	0,370	0.004 to 0.648	0,048	*
	SnelSed	Zeepier	9	0,285	-0.468 to 0.798	0,458	ns
	ToTSed	Zager	10	0,446	-0.255 to 0.840	0,196	ns
	ToTSed	Zeepier	7	0,629	-0.237 to 0.938	0,131	ns

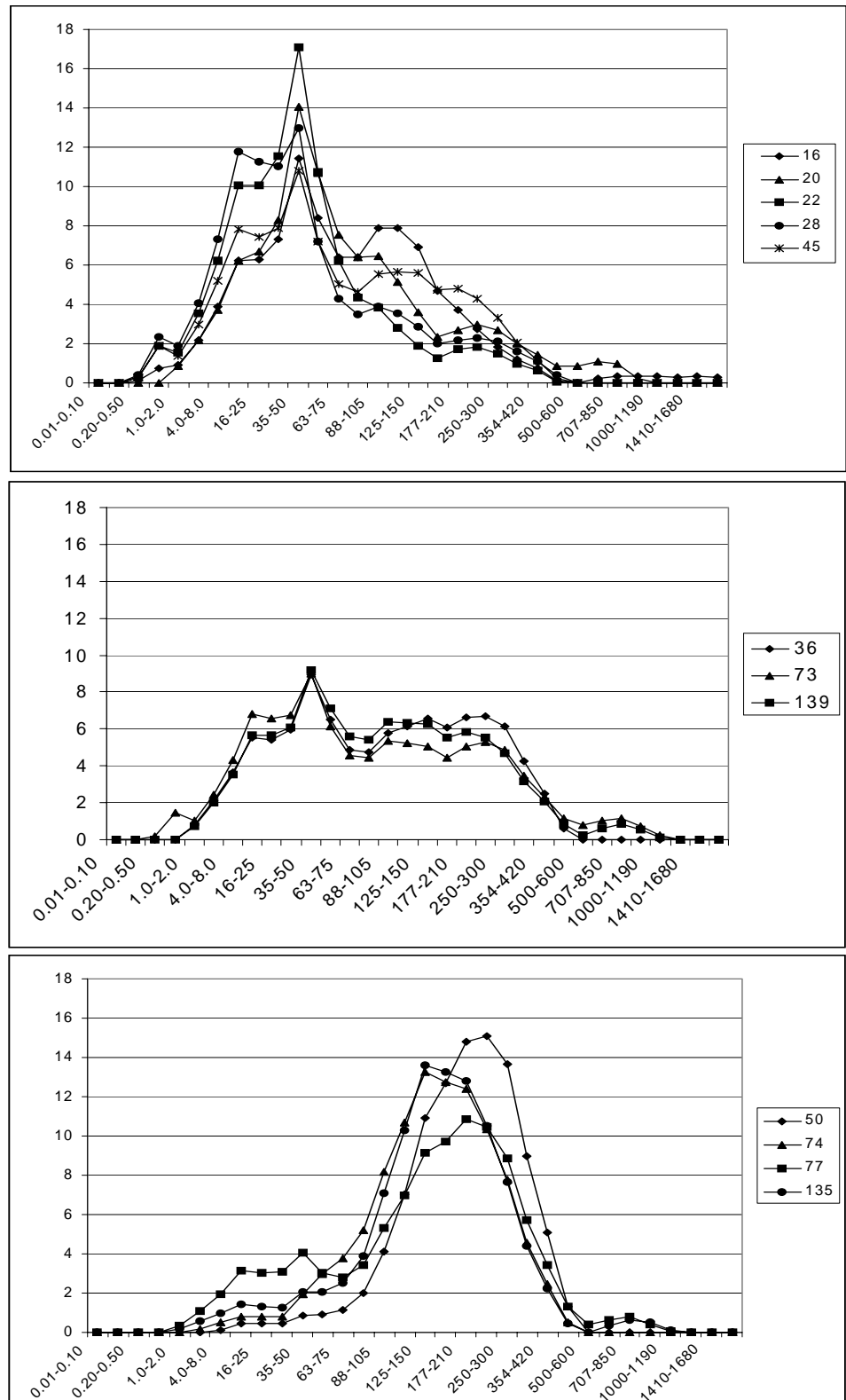
			N	Pearson r	95% confidence interval	P (two- tailed)	Sign
Benzo(k) fluoranteen	SnelSed	TotSed	12	0,778	0.368 to 0.935	0,003	**
	SnelSed	Zager	29	0,550	0.230 to 0.763	0,002	**
	SnelSed	Zeepier	9	0,397	-0.363 to 0.840	0,290	ns
	ToTSed	Zager	10	0,601	-0.047 to 0.893	0,066	ns
	ToTSed	Zeepier	7	0,677	-0.156 to 0.947	0,095	ns
Chryseen	SnelSed	TotSed	12	0,682	0.178 to 0.903	0,015	*
	SnelSed	Zager	29	0,659	0.385 to 0.826	0,0001	***
	SnelSed	Zeepier	9	0,565	-0.160 to 0.894	0,113	ns
	ToTSed	Zager	10	0,668	0.066 to 0.914	0,035	*
	ToTSed	Zeepier	7	0,738	-0.035 to 0.958	0,058	ns
Dibenz(ah) antracene	SnelSed	TotSed	12	0,856	0.554 to 0.959	0,0004	***
	SnelSed	Zager	28	0,045	-0.334 to 0.412	0,819	ns
	SnelSed	Zeepier	9	0,556	-0.171 to 0.891	0,120	ns
	ToTSed	Zager	10	0,133	-0.542 to 0.704	0,715	ns
	ToTSed	Zeepier	7	0,752	-0.002 to 0.961	0,051	ns
Fenantreen	SnelSed	TotSed	12	0,565	-0.014 to 0.860	0,056	ns
	SnelSed	Zager	29	0,482	0.141 to 0.721	0,008	**
	SnelSed	Zeepier	9	-0,178	-0.753 to 0.551	0,646	ns
	ToTSed	Zager	10	0,099	-0.566 to 0.686	0,785	ns
	ToTSed	Zeepier	7	0,545	-0.354 to 0.920	0,206	ns
Fluoreen	SnelSed	TotSed	12	0,575	0.002 to 0.864	0,050	ns
	SnelSed	Zager	29	0,495	0.156 to 0.729	0,006	**
	SnelSed	Zeepier	9	-0,248	-0.783 to 0.498	0,520	ns
	ToTSed	Zager	10	-0,304	-0.784 to 0.403	0,393	ns
	ToTSed	Zeepier	7	-0,277	-0.853 to 0.601	0,547	ns
Fluoranteen	SnelSed	TotSed	12	0,662	0.143 to 0.896	0,019	*
	SnelSed	Zager	29	0,732	0.500 to 0.866	P<0.0001	***
	SnelSed	Zeepier	9	0,734	0.136 to 0.940	0,0243	*
	ToTSed	Zager	10	0,764	0.260 to 0.941	0,010	*
	ToTSed	Zeepier	7	0,791	0.093 to 0.968	0,034	*
Indeno pyreen	SnelSed	TotSed	12	0,766	0.342 to 0.931	0,004	**
	SnelSed	Zager	29	0,444	0.093 to 0.697	0,016	*
	SnelSed	Zeepier	9	0,452	-0.303 to 0.859	0,222	ns
	ToTSed	Zager	10	0,492	-0.200 to 0.856	0,149	ns
	ToTSed	Zeepier	7	0,695	-0.123 to 0.951	0,083	ns
Naftaleen	SnelSed	TotSed	12	0,121	-0.487 to 0.650	0,708	ns
	SnelSed	Zager	29	-0,029	-0.391 to 0.341	0,881	ns
	SnelSed	Zeepier	9	0,278	-0.474 to 0.795	0,469	ns
	ToTSed	Zager	10	0,095	-0.569 to 0.684	0,794	ns
	ToTSed	Zeepier	7	0,544	-0.355 to 0.920	0,207	ns
Pyreen	SnelSed	TotSed	12	0,732	0.272 to 0.920	0,007	**
	SnelSed	Zager	29	0,699	0.447 to 0.848	P<0.0001	***
	SnelSed	Zeepier	9	0,520	-0.221 to 0.880	0,152	ns
	ToTSed	Zager	10	0,763	0.256 to 0.941	0,010	*
	ToTSed	Zeepier	7	0,817	0.165 to 0.972	0,025	*

Tabel 10 Overzicht correlatie berekeningen PCB. Data log-getransformeerd. Gehalten op droge stof basis. Gehalten < detectie limiet, gelijkgesteld aan detectie limiet.

			N	Pearson r	95% confidence interval	P (two-tailed)	Sign
PCB28	SnelSed	TotSed	12	0,925	0.747 to 0.979	P<0.0001	***
	SnelSed	Zager	24	0,441	0.046 to 0.717	0,031	*
	SnelSed	Zeepier	9	0,203	-0.533 to 0.764	0,600	ns
	TotSed	Zager	10	0,294	-0.412 to 0.779	0,410	ns
	TotSed	Zeepier	7	0,274	-0.604 to 0.851	0,553	ns
PCB52	SnelSed	TotSed	12	0,740	0.288 to 0.922	0,006	**
	SnelSed	Zager	29	0,521	0.191 to 0.745	0,004	**
	SnelSed	Zeepier	9	0,270	-0.480 to 0.792	0,482	ns
	TotSed	Zager	10	0,373	-0.335 to 0.812	0,288	ns
	TotSed	Zeepier	7	-0,033	-0.767 to 0.738	0,944	ns
PCB101	SnelSed	TotSed	12	0,871	0.594 to 0.963	0,0002	***
	SnelSed	Zager	28	0,428	0.065 to 0.691	0,023	*
	SnelSed	Zeepier	9	0,513	-0.230 to 0.878	0,158	ns
	TotSed	Zager	10	0,271	-0.433 to 0.769	0,449	ns
	TotSed	Zeepier	7	0,338	-0.557 to 0.870	0,458	ns
PCB118	SnelSed	TotSed	12	0,632	0.091 to 0.885	0,028	*
	SnelSed	Zager	24	0,609	0.273 to 0.813	0,002	**
	SnelSed	Zeepier	9	0,507	-0.238 to 0.876	0,164	ns
	TotSed	Zager	10	0,303	-0.404 to 0.783	0,396	ns
	TotSed	Zeepier	7	0,692	-0.128 to 0.950	0,085	ns
PCB138	SnelSed	TotSed	12	0,908	0.699 to 0.974	P<0.0001	***
	SnelSed	Zager	28	0,507	0.165 to 0.740	0,006	**
	SnelSed	Zeepier	9	0,756	0.184 to 0.945	0,019	*
	TotSed	Zager	10	0,500	-0.190 to 0.859	0,141	ns
	TotSed	Zeepier	7	0,921	0.549 to 0.989	0,003	**
PCB153	SnelSed	TotSed	12	0,954	0.841 to 0.987	P<0.0001	***
	SnelSed	Zager	29	0,320	-0.053 to 0.614	0,091	ns
	SnelSed	Zeepier	9	0,502	-0.243 to 0.875	0,168	ns
	TotSed	Zager	10	0,469	-0.229 to 0.848	0,172	ns
	TotSed	Zeepier	7	0,656	-0.192 to 0.943	0,110	ns
PCB180	SnelSed	TotSed	12	0,719	0.247 to 0.915	0,008	**
	SnelSed	Zager	27	0,300	-0.091 to 0.610	0,129	ns
	SnelSed	Zeepier	9	0,473	-0.279 to 0.865	0,199	ns
	TotSed	Zager	10	0,547	-0.127 to 0.875	0,102	ns
	TotSed	Zeepier	7	0,751	-0.005 to 0.961	0,052	ns

Tabel 11 Overzicht correlatie berekeningen metalen. Data log-getransformeerd

			N	Pearson r	95% confidence interval	P (two-tailed)	Sign
As	TotSed	PW	11	-0,005	-0,603 to 0,597	0,988	ns
	TotSed	Zager	10	0,677	0,083 to 0,916	0,031	*
	TotSed	Zeepier	7	0,497	-0,409 to 0,910	0,256	ns
	PW	Zager	9	-0,202	-0,764 to 0,534	0,602	ns
	PW	Zeepier	7	-0,513	-0,913 to 0,3919	0,239	ns
Cd	TotSed	PW	11	0,561	-0,058 to 0,869	0,072	ns
	TotSed	Zager	10	0,345	-0,364 to 0,801	0,330	ns
	TotSed	Zeepier	7	0,221	-0,639 to 0,835	0,635	ns
	PW	Zager	9	0,593	-0,118 to 0,902	0,092	ns
	PW	Zeepier	7	0,251	-0,619 to 0,844	0,588	ns
Cr	TotSed	PW	11	-0,051	-0,632 to 0,566	0,881	ns
	TotSed	Zager	10	0,760	0,249 to 0,940	0,011	*
	TotSed	Zeepier	7	-0,106	-0,796 to 0,703	0,822	ns
	PW	Zager	9	-0,079	-0,706 to 0,618	0,840	ns
	PW	Zeepier	7	0,628	-0,238 to 0,938	0,131	ns
Cu	TotSed	PW	11	0,415	-0,247 to 0,813	0,205	ns
	TotSed	Zager	10	0,479	-0,216 to 0,852	0,162	ns
	TotSed	Zeepier	7	-0,397	-0,885 to 0,508	0,378	ns
	PW	Zager	9	0,273	-0,478 to 0,793	0,477	ns
	PW	Zeepier	7	0,487	-0,420 to 0,907	0,268	ns
Ni	TotSed	PW	11	-0,050	-0,631 to 0,567	0,885	ns
	TotSed	Zager	10	0,508	-0,180 to 0,862	0,134	ns
	TotSed	Zeepier	7	0,009	-0,749 to 0,757	0,985	ns
	PW	Zager	9	0,578	-0,140 to 0,900	0,103	ns
	PW	Zeepier	7	-0,060	-0,778 to 0,726	0,898	ns
Pb	TotSed	PW	11	0,890	0,622 to 0,971	0,000	***
	TotSed	Zager	10	0,163	-0,520 to 0,719	0,652	ns
	TotSed	Zeepier	7	-0,059	-0,778 to 0,726	0,900	ns
	PW	Zager	9	-0,049	-0,691 to 0,636	0,900	ns
	PW	Zeepier	7	-0,126	-0,803 to 0,693	0,789	ns
Se	TotSed	PW	11	0,196	-0,458 to 0,713	0,563	ns
	TotSed	Zager	10	0,669	0,068 to 0,914	0,034	*
	TotSed	Zeepier	7	-0,670	-0,946 to 0,168	0,100	ns
	PW	Zager	9	-0,223	-0,773 to 0,518	0,564	ns
	PW	Zeepier	7	-0,049	-0,774 to 0,731	0,916	ns
Zn	TotSed	PW	11	0,413	-0,249 to 0,812	0,207	ns
	TotSed	Zager	10	0,217	-0,478 to 0,745	0,547	ns
	TotSed	Zeepier	7	-0,082	-0,787 to 0,715	0,861	ns
	PW	Zager	9	0,260	-0,488 to 0,788	0,499	ns
	PW	Zeepier	7	-0,013	-0,759 to 0,748	0,978	ns



Figuur 7 Korrelgrootte verdeling van 12 sedimentmonsters. Van boven naar beneden: slib, onduidelijk en zand monsters.

Bijlage 2 poster



TNO Bulk Environment, and Geosciences
 IMARES
 PO Box 57 • 1780 AB Den Helder • The Netherlands
 Maas.kaag@tno.nl
 andrea.sneekes@tno.nl

M.H.B.M. Kaag
 A.C. Sneekes

Bioaccumulation of contaminants by lugworms and ragworms: feeding makes the difference

It is generally acknowledged that only a part of sediment-bound contaminants is available for uptake in biota. Risk assessments based upon contaminant concentrations in whole sediments are, therefore, merely a "worst-case" estimation. Chemically based extraction techniques are often proposed (porewater, fast desorbing fraction) in order to yield a better estimate of the bioavailable fraction of sediment-bound contaminants. These techniques ignore the fact that organisms vary widely in ecological characteristics and consequently in the way they are exposed. To illustrate this, we have exposed two polychaete worms with a different ecology to several contaminated sediments.

Methods

The species tested were the ragworm *Nereis virens* and the lugworm *Aricidea marina*. Both are infaunal species living in burrows, but *N. virens* is a predatory species, whereas *A. marina* is an obligate sediment-feeder. It may be expected that *N. virens* is exposed through the porewater, while *A. marina* is exposed through ingestion of the sediment.

Both species were exposed to contaminated field sediments under static conditions in the laboratory for 20 days. The fast desorbing fraction of dioxin, PAH and PCB were extracted from the sediments using XAD resins. Metals were analysed in porewater separated from the sediment by centrifugation. To facilitate comparison, all concentrations are expressed on a dry weight basis.



Nereis virens



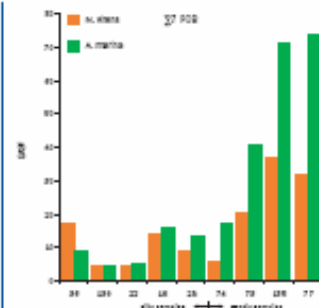
Aricidea marina

Results

- For most organic compounds a good correlation was found between whole sediment concentration and fast desorbing fraction in the sediment.
- Heavy metal concentrations in the porewater did not correlate with whole sediment concentrations.
- Accumulation of contaminants in *A. marina* and *N. virens* did not correlate with whole sediment concentrations.
- Accumulation of some PCB (5 out of 7) in *N. virens* correlated with the fast desorbing fraction.
- For most contaminants, concentrations in *A. marina* were higher than in *N. virens* (see Table).
- The difference between the two species is most pronounced on sandy sediments, where *A. marina* actively feeds (see Figure).

Parameter	<i>N. virens</i>	and significant	<i>A. marina</i>
PAH	fluoranthene, benzo[a]fluoranthene, benzo[a]pyrene, benzo[b]fluoranthene, benzo[k]fluoranthene, benzo[e]pyrene, dibenz[a,h]anthracene, indeno[1,2,3-cd]perylene	fluoranthene, benzo[a]fluoranthene, benzo[a]pyrene, benzo[b]fluoranthene, benzo[k]fluoranthene, dibenz[a,h]anthracene, indeno[1,2,3-cd]perylene, perylene	benzo[a]fluoranthene, benzo[a]pyrene, benzo[b]fluoranthene, benzo[k]fluoranthene, dibenz[a,h]anthracene, indeno[1,2,3-cd]perylene, perylene
PCB	PCB28, PCB52	PCB28, PCB52, PCB101, PCB149	PCB28, PCB52, PCB101, PCB149
metals	nickel, cadmium, lead, copper, selenium	cadmium, copper	nickel

Summary of differences in accumulation between *A. marina* and *N. virens*. Significance tested with Wilcoxon signed rank test.



Bioaccumulation Factor (BAF) for 27 PCB congeners in *A. marina* and the predatory *N. virens* in relation to sediment texture.

Discussion

- Sediment-bound contaminants are accumulated to a greater extent by the sediment-feeding *A. marina*, compared to the predatory *N. virens*.
- Ecological characteristics (mode of feeding) and physiological characteristics (PAH metabolism by *N. virens*, but not *A. marina*) play an important role.
- Sediment characteristics are probably more relevant in ecological sense than in chemical sense.
- Chemically based estimates of bioavailability do not have an ecological basis.

