

TBT-gehalten en effecten bij de
Gewone Alikruik (*Littorina littorea*)
en de Gevlochten Fuikhoorn
(*Nassarius reticulatus*) langs de
Nederlandse kust in 2009

N.H.B.M. Kaag, J. Jol & M. Hoek-van Nieuwenhuizen

Rapport C113/09



IMARES Wageningen UR

Institute for Marine Resources & Ecosystem Studies

Opdrachtgever:

Rijkswaterstaat Waterdienst
A. Houben
Postbus 17
8200 AA Lelystad

Publicatiedatum:

3 november 2009

IMARES is:

- een onafhankelijk, objectief en gezaghebbend instituut dat kennis levert die noodzakelijk is voor integrale duurzame bescherming, exploitatie en ruimtelijk gebruik van de zee en kustzones;
- een instituut dat de benodigde kennis levert voor een geïntegreerde duurzame bescherming, exploitatie en ruimtelijk gebruik van zee en kustzones;
- een belangrijke, proactieve speler in nationale en internationale mariene onderzoeksnetwerken (zoals ICES en EFARO).

© 2009 IMARES Wageningen UR

IMARES is geregistreerd in het
Handelsregister Amsterdam nr. 34135929,
BTW nr. NL 811383696B04.

De Directie van IMARES is niet aansprakelijk voor gevolgschade, noch voor schade welke voortvloeit uit toepassingen van de resultaten van werkzaamheden of andere gegevens verkregen van IMARES; opdrachtgever vrijwaart IMARES van aanspraken van derden in verband met deze toepassing.

Dit rapport is vervaardigd op verzoek van de opdrachtgever hierboven aangegeven en is zijn eigendom. Niets uit dit rapport mag weergegeven en/of gepubliceerd worden, gefotokopieerd of op enige andere manier gebruikt worden zonder schriftelijke toestemming van de opdrachtgever.

A_4_3_1-V78.0

Samenvatting

Sinds 2005 analyseert IMARES in opdracht van de Waterdienst van Rijkswaterstaat het voorkomen van intersex bij de Gewone Alikruik (*Littorina littorea*) die op vaste locaties langs de Nederlandse kust verzameld worden. Het doel van dit onderzoek is effecten van verontreiniging met organotinverbindingen vast te stellen.

Gewone Alikruiken zijn in vergelijking met andere gastropoden echter vrij ongevoelig voor TBT. In overleg met de opdrachtgever zijn dit jaar naast de Gewone Alikruiken ook Gevlochten Fuikhoorns (*Nassarius reticulatus*) verzameld. Dit is gedaan tijdens de schelpdierbemonsteringen die IMARES in opdracht van het Ministerie van LNV uitvoert. Bij de Gevlochten Fuikhoorn resulteert TBT in imposex verschijnselen, een gevoeliger parameter dan intersex.

Bij de Gewone Alikruiken werden net als in 2008 geen intersex verschijnselen aangetroffen. Bij de Gevlochten Fuikhoorn werd een lichte mate van imposex geconstateerd op de locaties voor de Zeeuwse en Zuid-Hollandse kust (Stadium 1a; VDSI 0,16-0,48). Op de meest noordelijke locatie (zandwingebied Noorderhaaks voor de kust van Den Helder) werden geen imposex verschijnselen aangetroffen bij de Gevlochten Fuikhoorn.

In alle bemonsterde dieren zijn organotin-gehalten geanalyseerd. Slechts bij enkele monsters werden meetbare concentraties organotin-verbindingen aangetroffen, zowel bij Gewone Alikruiken en als Gevlochten Fuikhoorns. Er was geen aantoonbare relatie tussen gehalten en de mate van de effecten. De gehalten in Gewone Alikruiken waren iets lager dan in 2008.

Op basis van de imposex-resultaten bij de Gevlochten Fuikhoorn, vallen drie locaties in OSPAR Assessment Class C (Monding Oosterschelde, Monding Haringvliet en Scheveningen).

Inhoudsopgave

Samenvatting	3
1 Inleiding	7
2 Methode	9
2.1 Intersex en imposex	9
2.2 Chemische analyses.....	10
3 Resultaten.....	13
3.1 Intersex Gewone Alikruiken	13
3.2 Imposex Gevlochten Fuikhoorns	13
3.3 Organotin gehalten.....	16
4 Discussie/conclusie	19
5 Literatuur	21
6 Kwaliteitsborging	23
7 Bijlagen.....	25
Verantwoording	27

1 Inleiding

Sinds 2005 analyseert IMARES het voorkomen van intersex bij Gewone Alikruiken (*Littorina littorea*) die op vaste locaties langs de Nederlandse kust verzameld worden. Het doel van dit onderzoek is effecten van verontreiniging met TBT vast te stellen.

Gewone Alikruiken zijn algengrazers en in vergelijking met andere gastropoden vrij ongevoelig voor TBT. Blootstelling aan TBT kan leiden tot intersex, een afwijking waarbij de vrouwelijke genitaliën vergroeien tot mannelijke genitaliën. Bij roofslakken resulteert blootstelling aan TBT in imposex. Hierbij ontwikkelen de vrouwtjes naast normale vrouwelijke genitaliën, ook mannelijke genitaliën, die uiteindelijk de oviduct (eileider) blokkeren, wat leidt tot steriliteit (en sterfte) (Bauer et al., 1995). Imposex treedt al bij veel lagere TBT-gehalten op dan intersex.

De Purperslak (*Nucella lapillus*) is een van de gevoeligste soorten met betrekking tot TBT. Deze soort komt voor in de Zeeuwse wateren en vertoont voldoende variatie in imposex om een realistisch onderscheid te kunnen maken tussen locaties met betrekking tot de TBT belasting (Kaag & Jol, 2007). Door de beperkte verspreiding is deze soort echter niet geschikt om als indicatorsoort voor de gehele Nederlandse kustzone te dienen.

Een alternatief zou de Gevlochten Fuikhoorn (*Nassarius reticulatus*) kunnen zijn. Deze soort wordt sinds enkele jaren steeds talrijker aangetroffen tijdens de jaarlijkse schelpdiersurveys die IMARES in opdracht van het Ministerie van LNV uitvoert in de Nederlandse wateren. Ook de Gevlochten Fuikhoorn vertoont imposex en is gevoeliger dan de Gewone Alikruik, maar niet zo extreem gevoelig als de Purperslak (Stroben *et al.*, 1992a; Bryan *et al.*, 1993; Oehlmann *et al.*, 1996). In 2009 zijn daarom niet alleen Gewone Alikruiken verzameld op de standaardlocaties, maar zijn ook op vijf locaties Gevlochten Fuikhoorns verzameld. De keuze van de locaties was te voren alleen globaal bepaald (monding Westerschelde, monding Europoort en voor de kust van Noord-Holland), aangezien niet bekend was waar de aantallen hoog genoeg zouden zijn voor het verzamelen van een voldoende groot monster

Bij de Gewone Alikruiken is de mate van intersex vastgesteld en is het organotin-gehalte in het weefsel van de dieren bepaald. Bij de Gevlochten Fuikhoorns is de mate van imposex vastgesteld en is ook het organotin-gehalte in het weefsel van de dieren bepaald.

2 Methode

2.1 Intersex en imposex

Gewone Alikruiken werden op 3, 4, 7, 22, 23 en 25 juni 2009 verzameld op zeven locaties (Tabel 1). Op iedere locatie zijn voldoende Gewone Alikruiken verzameld voor de analyse van minimaal 40 individuen op het voorkomen van intersex en chemische analyse van de weefsels op organotin-verbindingen. De verzamelde Gewone Alikruiken zijn binnen twee dagen gekoeld (koelbox met voldoende koelementen) naar het laboratorium in Yerseke vervoerd. Uitvoering van de intersex-analyse is gedaan in overeenstemming met standaardvoorschrift RIKZ-BC109 (Jol, 2002). Intersex bij Gewone Alikruiken kan in een gradueel systeem geclassificeerd worden, waarbij 4 stadia worden onderscheiden, lopend van 0 (geen effect) tot 3 (volledig steriliteit). De ISI (intersex index) is het gemiddelde intersex stadium van de populatie.

Gevlochten Fuikhoorns werden op 21 april en 6, 12, 25 en 28 mei verzameld tijdens de schelpdierbemonstering (Tabel 2). Tijdens deze bemonstering werden de schelpdieren bemonsterd met de IMARES-bodemschaaf in raaien van 150 meter lang. De schaar is 15 cm breed, zodat een totale oppervlak van 22,5 m² wordt bemonsterd. Raai 87 en 239 voor de Zuid-Hollandse kust leverden voldoende dieren op voor de analyses (minimaal 40 exemplaren). Bij de andere gebieden werden Gevlochten Fuikhoorns van vier raaien samengevoegd, zodat een groter gebied bemonsterd werd. De verzamelde Gevlochten Fuikhoorns werden zo mogelijk nog dezelfde dag aan boord van het schip geanalyseerd. De imposex-analyse is uitgevoerd conform Stroben *et al.* (1992b). Imposex bij Gevlochten Fuikhoorns kan in een gradueel systeem geclassificeerd worden, waarbij 5 stadia worden onderscheiden, lopend van 0 (geen effect) tot 4 (penis met volledige vas deferens). Er zijn geen aanwijzingen dat steriliteit optreedt bij Gevlochten Fuikhoorns (stadia 5 en 6).

De belangrijkste karakteristiek voor de populatie is de VDSI (Vas Deferens Sequence Index). Dit is het gemiddelde imposex stadium in de populatie.

Daarnaast kan ook de relatieve lengte van de vrouwelijke penis worden uitgedrukt in een index. De RPS (Relative Penis Size) is gedefinieerd als:

$$\frac{\text{gemiddelde lengte van de vrouwelijke penis}^3}{\text{gemiddelde lengte van de mannelijke penis}^3} \cdot 100$$

Deze is in principe gebaseerd op alle vrouwtjes (Gibbs *et al.*, 1987; Gibbs, 1999).

Alle onderzochte dieren zijn voorbehandeld voor de analyse op organotin verbindingen. Deze voorbehandeling bestaat uit het zoveel mogelijk verwijderen van de schaal en operculum, schoonspoelen en invriezen. De ingevroren monsters zijn naar het laboratorium van IMARES in IJmuiden gebracht voor analyse op organotin.

Tabel 1 Datum van bemonstering Gewone Alikruik in 2009 en locaties van de monstergebieden

Datum	Locatiennaam	DONAR locatiecode	Coördinaten (WGS84)		RD-coördinaten (m)	
			N	E	X	Y
25-6-2009	Oosterschelde-midden Oesterput/Roompot	OESTPT	51°36.249'	003°47.816'	44836	402899
3-6-2009	Hollandse-kust zuid Ijmuiden	IJMDBTHVN	52°27.564'	004°32.754'	97820	497181
7-6-2009	Hollandse-kust noord Petten	PETTZD	52°44.999'	004°38.809'	105009	529440
25-6-2009	Westerschelde-west Vlissingen de Kaloot, westzijde, Borssele centrale	BORSSLULEPZK	51°25.896'	003°42.603'	38376	383840
23-6-2009	Eems-Dollard Eemshaven vak 1	EEMSHVN	53°27.166'	006°50.024'	251096	608359
4-6-2009	Waddenzee-West Roptazijl	ROPTZL	53°12.585'	005°26.244'	158353	580347
22-6-2009	Noordwijk-west Scheveningen oude Zhooft vak 2	SCHEVNG1HVMD	52°05.950'	004°15.447'	77591	457371

Tabel 2 Datum van bemonstering Gevlochten Fuikhoorns in 2009 en locaties van de monstergebieden. Bij de locatiennaam is tussen haakjes de meest nabije DONAR locatiecode gegeven.

Datum	Locatiennaam (DONAR locatiecode)	Raainummer schelpdiersurvey	Coördinaten (WGS84)		RD-coördinaten (m)	
			N	E	X	Y
12-5-2009	mondig Oosterschelde (VOORDTOTSDDL)	268	51°39.0'	003°31.0'	25554	408459
		269	51°38.0'	003°25.0'	18585	406787
		270	51°38.0'	003°27.0'	20892	406726
		271	51°38.0'	003°29.0'	23199	406665
25-5-2009	mondig Haringvliet (GOERE10)	432	51°55.0'	003°52.5'	50450	437557
		433	51°55.0'	003°50.0'	48100	437606
		438	51°54.0'	003°47.5'	45193	435815
		440	51°53.0'	003°51.0'	49169	433874
5-5-2009	Zuid-Holland zuid (TERHDE6)	239	52°04.0'	004°08.0'	69025	453895
20-4-2009	Scheveningen (LOSWND04)	87	52°08.0'	004°10.0'	71435	461272
28-5-2009	Noorderhaaks (MIJNBVKQ02)	-	52°56.0'	004°31.5'	97028	549931
		-	52°56.0'	004°34.0'	99829	549899
		-	52°54.5'	004°34.0'	99798	547117
		-	52°55.5'	004°31.5'	97017	549004

2.2 Chemische analyses

Voor elke locatie is een mengmonster gemaakt van de weefsels van 10 willekeurige exemplaren van de onderzochte slakken. De organotinverbindingen in de mengmonsters zijn gemeten volgens de methode van het

laboratorium van RIKZ in Haren die eind 2007 bij IMARES geïmplementeerd is (Werkdocument RIKZ/ITL 99.667x en standaard voorschrift A646).

Bij deze methode wordt de extractie en derivatisering simultaan uitgevoerd. Een korte beschrijving van de methode is als volgt:

Een hoeveelheid van 1-5 gram nat materiaal wordt in bewerking genomen.

Water gebufferd tot een pH 4-5 en een mengsel van acetaatzuur en natriumacetaat, methanol en hexaan worden toegevoegd aan het monster. Na een continue toevoeging van natriumtetraethylboraat gedurende 15 minuten en continu roeren, wordt de pH boven de 12 gebracht met natriumhydroxide. De organische laag wordt d.m.v. centrifugeren gescheiden van de waterfase en het extract wordt gefractioneerd over een silica of aluminium kolom. De stoffen worden, na concentratie van het monster, met behulp van GC-MS geanalyseerd (SIM mode).

Onderstaande stoffen zijn geanalyseerd en gerapporteerd als gehalte Sn of kation. In het rapport zullen verder de afkortingen gebruikt worden om de stof aan te duiden.

Stofnaam	Afkorting	Cas nummer
Tributyltin	TBT	688-73-3
Dibutyltin	DBT	1002-53-5
Monobutyltin	MBT	78763-54-9
Trifenylnin	TPhT	668-34-8
Difenylnin	DPhT	1011-95-6
Monofenylnin	MPhT	2406-68-0

3 Resultaten

3.1 Intersex Gewone Alikruiken

In 2009 werd geen intersex waargenomen in de geanalyseerde Gewone Alikruiken. Het percentage vrouwtjes in het monster varieerde van 43% van de 46 (Scheveningen) tot 77,5% van de 40 (Petten). Een overzicht van de resultaten sinds 2005 is opgenomen in de bijlage.

Tabel 3 Resultaten intersex analyse Gewone Alikruik (*Littorina littorea*)

Lokatie	Jaar	Aantal onderzochte Gewone Alikruiken	♂ totaal	♀ met intersex	Intersex index	stadium			
						0	1	2	3
OESTPT	2009	40	29	0	0	29			
IJMDBTHVN	2009	40	20	0	0	20			
PETTZD	2009	40	31	0	0	31			
BORSSLULEPZK	2009	37 ¹	25	0	0	25			
EEMSHVN	2009	40	21	0	0	21			
ROPTZL	2009	41	27	0	0	27			
SCHEVNG1HVMD	2009	46	20	0	0	20			

¹ 3 exemplaren uitgesloten van analyse vanwege parasitisme

3.2 Imposex Gevlochten Fuikhoorns

Op vier van de vijf onderzochte locatie werden slakken met imposex verschijnselen aangetroffen (Tabel 4; Figuur 1). In bijna alle gevallen betrof het stadium 1a (eerste stadium penis ontwikkeling), alleen voor de monding van het Haringvliet werd een vrouwtje met stadium 3a (verdergaande penisontwikkeling en vorming vas deferens) gevonden. Bij Scheveningen was de VDSI het hoogst, gevolgd door de monding van de Haringvliet. Bij Noorderhaaks werden geen vrouwtjes met imposex-verschijnselen waargenomen. De relatieve penislengte (RPSI) vertoont een vergelijkbaar beeld. Ook hier is de index het hoogst bij Scheveningen, maar de index is bij de monding van de Haringvliet een stuk lager.

Tabel 4 Aantal vrouwtjes en mate van imposex bij de Gevlochten Fuikhoorn (*Nassarius reticulatus*) in 2009. RPS (Relative Penis Size); VDSI (Vas Deferens Sequence Index)

(Meest nabije) DONAR locatie	aantal onderzochte Gevlochten Fuikhoorns	♀♀ totaal	♀♀ imposex	RPSI	VDSI	stadium				
						0	1a	2	3a	4
VOORDTOTSDDL	40	26	8	0.00013	0.31	18	8			
GOERE10	40	23	8	0.00010	0.43	15	7		1	
TERHED6	40	25	4	0.00001	0.16	21	4			
LOSWND04	43	21	10	0.00051	0.48	11	10			
MIJNBVKQ02	40	23	0	0	0	23				



Figuur 1 Ligging van de gebieden waar de Gewone Alikruik (*Littorina littorea*) en de Gevlochten Fuikhoorn (*Nassarius reticulatus*) werden verzameld in 2009. Bij de gebieden waar de Gevlochten Fuikhoorn werd verzameld zijn ter indicatie ook VDSI (paars) en RPSI (groen) weergegeven. De RPSI is vermenigvuldigd met 100 om de assen vergelijkbaar te krijgen. De gebieden zijn aangegeven met de verkorte namen. De bijbehorende DONAR locatiecodes staan in Tabel 1 en Tabel 2.

3.3 Organotin gehalten

In tabel 5 en 6 zijn de gehalten van de organotin-verbindingen in Gewone Alikruiken en Gevlochten Fuikhoorns weergegeven.

Tabel 5 Organotin gehalten in Gewone Alikruik 2009, uitgedrukt als Sn of kation in $\mu\text{g}/\text{kg}$ natgewicht

DONAR locatie	MBT Sn	DBT Sn	TBT Sn	MPhT Sn	DPhT Sn	TPhT Sn
OESTPT	<3.4	<2.1	2.9	<2.1	<1.8	<1.2
IJMDBTHVN	<12	<3.6	<3.4	<3.7	<3.1	<2.1
PETTZD	<5.7	<2.1	<2.0	<2.1	<1.8	<1.2
BORSSLULEPZK	1.8	5.1	11	<1.2	<1.0	<0.7
EEMSHVN	<7.1	<3.5	<3.2	<3.5	<3.0	<2.0
ROPTZL	<1.2	<0.5	0.6	<0.5	<0.4	<0.3
SCHEVNG1HVMD	<8.5	<3.0	<2.8	<3.0	<2.6	<1.7
	kation	kation	kation	kation	kation	kation
OESTPT	<5.1	<4.0	7.0	<3.5	<4.3	<3.6
IJMDBTHVN	<18	<7.2	<8.3	<6.3	<7.5	<6.4
PETTZD	<8.5	<4.1	<4.8	<3.6	<4.4	<3.7
BORSSLULEPZK	2.7	10	28	<2.0	<2.5	<2.1
EEMSHVN	<11	<6.9	<7.9	<6.0	<7.2	<6.1
ROPTZL	<1.7	<0.9	1.6	<0.8	<1.0	<0.8
SCHEVNG1HVMD	<13	<5.9	<6.8	<5.1	<6.2	<5.2

Tabel 6 Organotin gehalten in Gevlochten Fuikhoorn 2009, uitgedrukt als Sn of kation in $\mu\text{g}/\text{kg}$ natgewicht

locatie	MBT Sn	DBT Sn	TBT Sn	MPhT Sn	DPhT Sn	TPhT Sn
VOORDTOTSDDL	<1.9	<1.1	2.1	<1.1	<0.9	0.7
GOERE10	<7.9	<1.6	<1.5	<1.6	<1.4	<0.9
TERHDE6	<3.0	<2.0	<1.9	<2.0	<1.7	<1.1
LOSWND04	<5.2	5.5	<2.3	<2.5	<2.2	<1.4
MIJNBVKQ02	<2.8	<1.9	2.1	<1.9	<1.6	<1.1
	kation	kation	kation	kation	kation	kation
VOORDTOTSDDL	<2.8	<2.1	5.1	<1.9	<2.3	2.1
GOERE10	<12	<3.2	<3.7	<2.8	<3.3	<2.8
TERHDE6	<4.4	<3.9	<4.6	<3.5	<4.1	<3.5
LOSWND04	<7.7	11	<5.7	<4.3	<5.2	<4.4
MIJNBVKQ02	<4.2	<3.8	5.2	<3.3	<3.9	<3.3

De meeste organotin-gehalten liggen onder of net op de detectielimiet. Bij de Gewone Alikruik lijkt TBT (als Sn en kation) iets hoger bij BORSSLULEPZK in vergelijking met de andere locaties (Tabel 5). Ook bij de Gevlochten Fuikhoorn zijn vrijwel alle organotin-gehalten onder de detectielimiet (Tabel 6). Verschillen tussen de locaties zijn daarom niet aan te geven.

De OSPAR richtlijn voor de detectielimiet voor TBT is $1 \mu\text{g}/\text{kg}$ nat gewicht uitgedrukt als Sn (OSPAR Agreement, 2009).

De detectielimieten bij de toegepaste methode worden afgeleid van de laagste gemeten standaard. Vanwege verschillen in ingewogen hoeveelheden (1- 5 gram nat materiaal) worden verschillende detectielimieten gerapporteerd. De gerapporteerde detectielimieten voldoen niet aan bovengestelde richtlijn.

Een mogelijkheid is om per mengmonster meer dan 10 willekeurige exemplaren voor chemische analyse ter beschikking te stellen (dit is afwijkend van het Projectplan chemisch meetnet MWTL 2009). Hierdoor zou een grotere hoeveelheid ingewogen kunnen worden, waardoor de detectielimieten lager zullen worden. Een andere mogelijkheid om de detectielimiet te verlagen is om de monsters voor analyse eerst te vriesdrogen, dit maakt de analyse wel meer bewerkelijk. Verschillen tussen locaties zullen dan mogelijk beter zichtbaar worden.

De Kaderrichtlijn Water hanteert een concept biotanorm voor tributyltin (kation) van 230 µg/kg. Dit betreft een Milieukwaliteitsnorm voor prioritaire stoffen voorgesteld door het Fraunhofer Instituut (CIS Data Sheets). Alle gemeten gehalten liggen ver beneden deze norm.

In Tabel 7 zijn de gemeten gehalten in twee verschillende referentiematerialen weergegeven. Het betreft het interne referentiemateriaal (IRM) van het laboratorium RIKZ Haren en een gecertificeerd referentiemateriaal (CRM) mosselen.

Tabel 7 Resultaten van de analyses van referentie materialen. Gehaltes in µg/kg drooggewicht. Vetgedrukt zijn waarden binnen de 2s-grenzen.

	IRM RIKZ Uitgedrukt als Sn	IMARES Uitgedrukt als Sn	CRM-CE477 (Mossel) Uitgedrukt als kation	IMARES Uitgedrukt als kation
MBT	8.90 ± 0.55	14.88	1500 ± 280	1783
DBT	10.63 ± 0.91	10.02	1540 ± 120	1593
TBT	12.10 ± 1.22	6.96	2200 ± 190	2092
MphT	3.34 ± 0.50	6.31		
DphT	2.86 ± 0.37	<1.2		
TphT	17.76 ± 2.20	10.53		

Het IRM is een eigen monster van het RIKZ Haren dat overgenomen is door IMARES. RIKZ Haren gebruikte dit monster om de kwaliteit van hun analyses te waarborgen. De onzekerheid voor dit IRM komt voort uit de spreiding in de kwaliteitscontrolekaart (2s-grenzen) van het RIKZ Haren voor dit monster. Dit betreft dus geen gecertificeerde (door verschillende laboratoria vastgestelde "ware") waarde. De door IMARES gemeten waarden in dit IRM wijken voor alle componenten, behalve voor DBT, af (buiten de 2s-grenzen) van de waarden gemeten door het RIKZ.

Het CRM mosselen betreft een gecertificeerd referentiemateriaal. De door IMARES gemeten waarden in dit monster worden voor de componenten DBT en TBT binnen de 2s-grenzen teruggevonden en de waarde voor de component MBT wordt net buiten de 2s-grens, maar wel binnen de 3s-afkeuringsgrens teruggevonden. Voor de overige organotin-componenten zijn geen gecertificeerde waarden vastgesteld.

In Tabel 8 zijn de resultaten van de Quasimeme ringonderzoeken in biota opgenomen.

Tabel 8 Resultaten Quasimeme ringonderzoeken in biota 2008 en 2009.

	Excercise 817 Round 54			Excercise 834 Round 56		
	Mean	Z-score	Qualification	Mean	Z-score	Qualification
Matrix	QSP026BT			QSP028BT		
TBT	9.300	-	Blanc	8.810	-	Blanc
DBT	<4.100	-	Blanc	1.450	1.6	Satisfactory
MBT	<4.900	-	Blanc	1.080	-	Blanc
TPhT	<1.900	-	Blanc	<0.700	-	Blanc
DPhT	<3.100	-	Blanc	2.690	-	Blanc
MPhT	<3.500	-	Blanc	<1.300	-	Blanc
	QSP027BT			QSP029BT		
TBT	26.000	-	Blanc	17.95	-	Blanc
DBT	<3.200	-	Blanc	10.44	1.8	Satisfactory
MBT	<3.800	-	Blanc	5.530	-	Blanc
TPhT	<1.400	-	Blanc	<0.600	-	Blanc
DPhT	<2.200	-	Blanc	<1.000	-	Blanc
MPhT	<2.500	-	Blanc	<1.200	-	Blanc

Voor verreweg de meeste resultaten kon, vanwege statistische overwegingen door Quasimeme, geen Z-score berekend worden. Aan deze resultaten is de kwalificatie Blanc toegekend. De enige Z-scores die bepaald konden worden waren de scores in ronde 56 voor de component DBT. Deze Z-scores voldeden aan het criterium $-2 < Z\text{-score} < 2$ en hebben de kwalificatie Satisfactory gekregen.

4 Discussie en conclusie

Net als in 2008 werden in 2009 op geen van de bemonsterde locaties intersex-verschijnselen gevonden bij de Gewone Alikruik. De TBT-gehalten in het open water langs de Nederlandse kust zijn inmiddels zo laag dat de Gewone Alikruik geen verschijnselen van intersex meer vertoont.

In 2009 zijn voor het eerst Gevlochten Fuikhoorns verzameld langs de Nederlandse kust. Deze vertoonden in beperkte mate verschijnselen van imposex. De VDSI van de Gevlochten Fuikhoorns valt bij drie locaties in OSPAR Assessment Class C (VDSI 0,3 -<2,0), waarbij bij de meest gevoelige soorten 30-100% van de vrouwtjes verschijnselen van imposex vertonen (in dit onderzoek 31% tot 48%). Dit indiceert dat de EAC voor TBT wordt overschreden en dat het risico bestaat dat bij de meer gevoelige soorten van het ecosysteem negatieve effecten optreden (OSPAR, 2003; 2004). Er zijn in dit onderzoek alleen TBT (en andere organotin) gehalten gemeten in het weefsel van de op imposex geanalyseerde slakken. De detectielimiet van de analyse voor TBT uitgedrukt als Sn is echter aan de hoge kant, zodat verschillen in gehalten nauwelijks geïnterpreteerd kunnen worden. In de Gevlochten Fuikhoorns zouden iets hogere gehalten verwacht kunnen worden door biomagnificatie. De Gevlochten Fuikhoorn is een predator van o.a. mosselen en is zelf waarschijnlijk niet in staat organotin-verbindingen af te breken, zodat via het voedsel opgenomen organotin-verbindingen kunnen ophopen in het weefsel van de slak. Bij een geschat drooggewicht van ca. 20% ligt de detectielimiet van de dit jaar toegepaste methode echter rond 25 µg/kg dw. Het is daarom noodzakelijk dat het materiaal gevriesdroogd wordt voor de analyse, zodat er meer materiaal opgewerkt kan worden en de detectielimiet omlaag gaat.

Bij de Gewone Alikruik werden dit jaar net als in 2008 geen verschijnselen van intersex aangetroffen. Ook in de periode 2005-2007 werden maar enkele exemplaren met verschijnselen van intersex gevonden. Het is de vraag of het nuttig is deze locaties jaarlijks te blijven bemonsteren.

Bij de dit jaar verzamelde Gevlochten Fuikhoorns was duidelijk sprake van imposex. Geconcludeerd kan dan ook worden dat de Gevlochten Fuikhoorn een geschikte kandidaat is voor de monitoring van TBT-verontreiniging in de Nederlandse kustwateren. Als de organotin-gehalten verder afnemen en ook bij de Gevlochten Fuikhoorn geen imposex meer kan worden waargenomen kan in de Zeeuwse wateren nog gebruik gemaakt worden van de Purperslak (*Nucella lapillus*) en in het open water van Noordhorens (*Neptunea antiqua*). De laatste soort komt echter in heel lage dichtheden verder op de Noordzee voor en is daarom minder geschikt voor gestructureerde monitoring. Voordeel van deze beide soorten is dat ze ook onderscheidend zijn in de laagste Assessment klassen van OSPAR. Deze A en B klassen staan echter voor een chronische blootstelling aan TBT-concentraties die lager zijn dan de EAC.

5 Literatuur

- Bauer B., P. Fioroni, I. Ide, S. Liebe, J. Oehlmann, E. Stroben & B. Watermann (1995) TBT effects on the female genital system of *Littorina littorea*: A possible indicator of tributyltin pollution. *Hydrobiologia* 309:15-27.
- Bryan G.W., G.R. Burt, P.E. Gibbs & P.L. Pascoe (1993) *Nassarius reticulatus* (Nassariidae: Gastropoda) as an indicator of tributyltin pollution before and after TBT restrictions. *J. Mar. Biol. Ass. U.K.* 73(4):913-929.
- Gibbs P.E., G.W. Bryan, P.L. Pascoe & G.R. Burt (1987) The use of the dogwhelk, *Nucella lapillus*, as an indicator of tributyltin (TBT) contamination. *J. Mar. Biol. Ass. U.K.* 67:507-523.
- Gibbs P.E. (1999) Biological effects of contaminants: Use of imposex in the dogwhelk (*Nucella lapillus*) as a bioindicator of tributyltin pollution. *ICES Techniques in Marine Environmental Sciences*, No. 24.
- Jol J. (2002) Vaststellen van intersex bij Alikruik (*Littorina littorea* L.). RIKZ standaardvoorschrift BCI-09 (concept).
- Kaag N.H.B.M. & J. Jol (2007) Monitoring imposex bij de purperslak, *Nucella lapillus*, in de Zeeuwse wateren. IMARES rapport C112/07.
- Oehlmann J., E. Stroben, U. Schulte-Oehlmann, B. Bauer, P. Fioroni & B. Markert (1996) Tributyltin biomonitoring using prosobranchs as sentinel organisms. *Fresenius J. Anal. Chem.* 354(5-6):540-545.
- OSPAR (2003) Harmonisation of criteria for the assessment of TBT-specific biological effects. OSPAR MON 03/3/1-E.
- OSPAR (2004) Provisional JAMP Assessment Criteria for TBT - Specific Biological Effects. OSPAR Agreement 2004-15.
- OSPAR (2009) JAMP Guidelines for Contaminant-Specific Biological Effects. OSPAR Agreement 2008-09.
- Projectplan chemisch meetnet MWTL 2009. Monitoren van biologische effecten door organotinverbindingen in mariene slakken. RWS.
- Standaard voorschrift A646. Analyse van butyltin en phenyltin verbindingen in mosselen, RIKZ, Haren, 1999.
- Stroben E., J. Oehlmann & P. Fioroni (1992a) *Hinia reticulata* and *Nucella lapillus*. Comparison of two gastropod tributyltin bioindicators. *Mar. Biol.* 114:289-296.
- Stroben E., J. Oehlmann & P. Fioroni (1992b) The morphological expression of imposex in *Hinia reticulata* (Gastropoda: Buccinidae): A potential indicator of tributyltin pollution. *Mar. Biol.* 113(4):625-636.
- Werkdocument RIKZ/ITL 99.667x. Validatie van de organotin-analyse in mosselen (Standaard voorschrift A646).

6 Kwaliteitsborging

IMARES beschikt over een ISO 9001:2000 gecertificeerd kwaliteitsmanagementsysteem (certificaatnummer: 08602-2004-AQ-ROT-RvA). Dit certificaat is geldig tot 15 december 2009. De organisatie is gecertificeerd sinds 27 februari 2001. De certificering is uitgevoerd door DNV Certification B.V. Het laatste controlebezoek vond plaats op 22-24 april 2009. Daarnaast beschikt het chemisch laboratorium van de afdeling Milieu over een NEN-EN-ISO/IEC 17025:2005 accreditatie voor testlaboratoria met nummer L097. Deze accreditatie is geldig tot 27 maart 2013 en is voor het eerst verleend op 27 maart 1997; deze accreditatie is verleend door de Raad voor Accreditatie.

Om de kwaliteit van de analyses te garanderen participeert IMARES in de door QUASIMEME georganiseerde ringtesten betreffende imposex en intersex in mariene slakken (BE-1) en de analyse van organotinverbindingen in biota.

De toegepaste chemische analyse methode is nog niet geaccrediteerd door de Raad voor Accreditatie. Momenteel is IMARES bezig met het opbouwen van een historie van geanalyseerde referentiematerialen die vereist is voor validatie van de methode. Verwacht wordt dat de methode volgend jaar voorgelegd kan worden voor accreditatie.

Volgens het validatierapport van de methode van het voormalige RIKZ in Haren moeten de resultaten voor de componenten MBT (recovery <50%), MPHT (recovery ca. 50%) en DPhT (recovery ca. 50%) als indicatief worden beschouwd. Van de overige componenten (DBT, TBT, TPhT) is de recovery >90% volgens de door IMARES toegepaste methode.

7 Bijlagen

Overzicht van de resultaten van de intersex analyses bij de Gewone Alikruik (*Littorina littorea*) per bemonsteringsjaar

Lokatie	Jaar	Aantal Gewone Alikruiken	♂ totaal	♂ met intersex	Intersex index	stadium			
						0	1	2	3
OESTERPUT	2005	45	25	0	0	25			
	2006	40	21	0	0	21			
	2007	40	22	0	0	22			
	2008	40	21	0	0	21			
	2009	40	29	0	0	29			
IJMUIDEN	2005	45	23	2	0.087	21	2		
	2006	45	20	0	0	20			
	2007	40	27	0	0	27			
	2008	40	25	0	0	25			
	2009	40	20	0	0	20			
PETTEN	2005	40	25	0	0	25			
	2006	40	20	0	0	20			
	2007	40	22	2	0.091	20	2		
	2008	40	23	0	0	23			
	2009	40	31	0	0	31			
BORSSELE	2005	40	31	1	0.032	30	1		
	2006	40	28	0	0	28			
	2007	40	21	0	0	21			
	2008	40	25	0	0	25			
	2009	37 ¹	25	0	0	25			
EEMSHAVEN	2005	40	23	1	0.043	22	1		
	2006	40	25		0	25			
	2007	40	21	0	0	21			
	2008	45	22	0	0	22			
	2009	40	21	0	0	21			
ROPTAZIJL	2005	40	22	0	0	22			
	2006	40	25	0	0	25			
	2007	40	24	2	0.083	22	2		
	2008	41	26	0	0	26			
	2009	41	27	0	0	27			
SCHEVENINGEN	2005	50	24	0	0	24			
	2006	45	21	0	0	21			
	2007	40	24	1	0.042	23		1	
	2008	40	20	0	0	20			
	2009	46	20	0	0	20			

¹ 3 exemplaren uitgesloten van analyse wegens parasitisme

Verantwoording

Rapport C113/09
Projectnummer: 430.51027.01

Verantwoording

Dit rapport is met grote zorgvuldigheid tot stand gekomen. De wetenschappelijke kwaliteit is intern getoetst door een collega-onderzoeker en het betreffende afdelingshoofd van IMARES.

Akkoord: Dr. R.G. Jak
Senior onderzoeker

Handtekening:



Datum: 3 november 2009

Akkoord: Drs. J.H.M. Schobben
Afdelingshoofd milieu

Handtekening:



Datum: 3 november 2009