

BLM berekeningen voor zware metalen in oppervlaktewateren

Speciatieberekeningen en NOEC/HC5 afleiding voor koper en zink voor verschillende taxonomische groepen



BLM berekeningen voor zware metalen in oppervlaktewateren

**Speciatieberekeningen en NOEC/HC5 afleiding voor koper en
zink voor verschillende taxonomische groepen**

Jos P.M. Vink
Anja Verschoor

Titel

BLM berekeningen voor zware metalen in oppervlaktewateren

Opdrachtgever

Wageningen Universiteit

Pagina's


18

Trefwoorden

Biotic ligand model; koper; zink; risico beoordeling; oppervlaktewater; toxiciteit;
Copper; zinc; risk assessment; surface water; toxicity;

Samenvatting

Voor een database van 1090 meetpunten in oppervlaktewateren in Nederland, aangeleverd door Alterra (Wageningen Universiteit), zijn door Deltares speciatieberekeningen uitgevoerd en met behulp van de Biotic Ligand Models (BLM) voor koper en zink de bijbehorende NOECs, HC5-waarden en potentieel aangetaste fractie van soorten (PAF) berekend.

| Versie | Datum | Auteur | Paraaf | Review | Paraaf | Goedkeuring | Paraaf |
|----------------|------------|---------------|--|--------|--------|-------------|--------|
| | 11-11-2009 | Jos P.M. Vink |  | | | | |
| <hr/> | | | | | | | |
| Anja Verschoor | | | | | | | |
| <hr/> | | | | | | | |
| <hr/> | | | | | | | |

Status

Dit document is uitsluitend bedoeld voor discussiedoeleinden. Aan de inhoud van dit rapport kunnen Geen rechten worden ontleend.

Het rapport is een toelichting op geleverde databases en de resultaten van bewerkingen. Deze mogen slechts met schriftelijke toestemming van zowel Deltares als Alterra aan derden worden verstrekt.

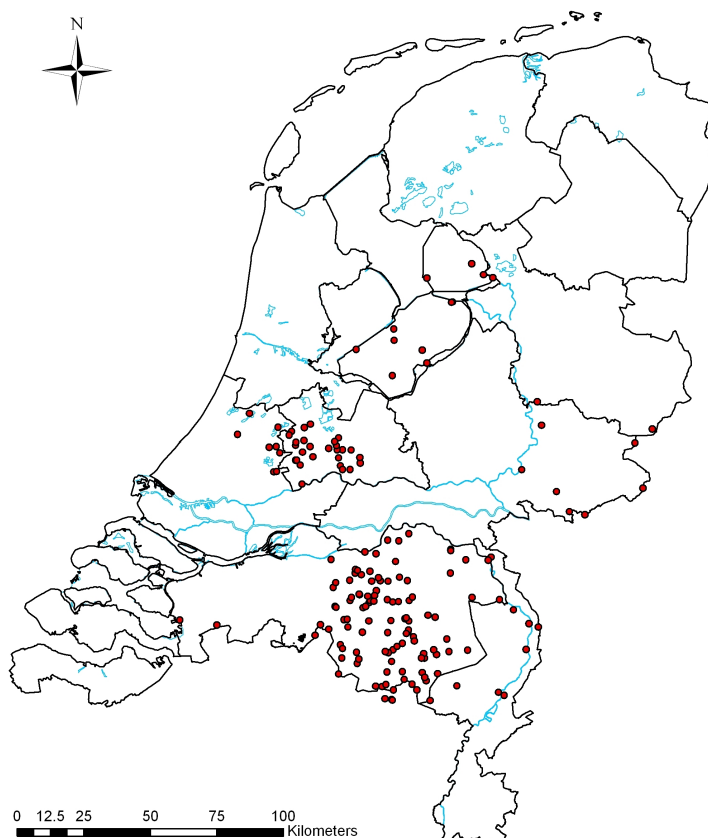
Inhoud

| | |
|--|-----------|
| 1 Aanleiding | 1 |
| 2 Probleemstelling | 2 |
| 3 Werkwijze | 3 |
| 3.1 Basisgegevens | 3 |
| 3.2 Het Biotic Ligand Model | 3 |
| 3.3 Uitvoering van de berekeningen | 4 |
| 4 Resultaten | 7 |
| 4.1 Chemische speciatie berekeningen | 7 |
| 4.2 Normalisering No Effect Concentration (NOEC) | 7 |
| 4.3 SSD-curven | 8 |
| Referenties | 10 |

1 Aanleiding

Alterra (Wageningen Universiteit) voert al enige jaren onderzoek uit de naar de uitspoeling van zware metalen uit landbouwgronden naar het oppervlaktewater. Het ministerie van LNV heeft aan Alterra gevraagd om te onderzoeken of voor oppervlaktewateren waar de concentraties van zware metalen de geldende normen overschrijden er ook daadwerkelijke ecologische risico's zijn.

Door Deltares worden, in samenwerking met Universiteit Leiden, Biotic Ligand Modellen (BLM) ontwikkeld waarmee ecologische risico's voorspeld kunnen worden. Alterra heeft Deltares gevraagd om voor een database van 1090 records met metingen van Cu, Zn (993 metingen), pH, DOC, Ca, Mg, Na en Cl in oppervlaktewater te berekenen of er ecologische risico's door Cu of Zn worden verwacht.



Figuur 1: Ligging van de doorgerekende locaties.

2 Probleemstelling

Zware metalen worden gezien als probleemstoffen in oppervlaktewater. Cadmium, lood, nikkel en kwik zijn bijvoorbeeld geselecteerd als prioritaire stoffen binnen de Kaderrichtlijn Water (KRW). Normen van de resterende metalen waaronder koper en zink worden regelmatig overschreden in Nederlandse oppervlaktewateren en deze metalen zijn daarmee nationale probleemstoffen. Normoverschrijding impliceert dat er soms kostbare emissie-maatregelen genomen dienen te worden. De vraag is echter of deze emissie-maatregelen leiden tot een daadwerkelijke verbetering van de ecologische kwaliteit van het water.

De huidige normen zijn gebaseerd op het toetsen van het opgeloste metaalgehalten aan het Maximaal Toelaatbaar Risiconiveau (MTR). Nieuwe wetenschappelijke inzichten (de Biotic Ligand Models) duiden er op dat deze wijze van toetsen niets zegt over daadwerkelijk optredende ecologische risico's (Vink, 2009). Biotic Ligand Modellen kunnen worden gebruikt om de biobeschikbaarheid voor metalen te verdisconteren in de normstelling als alternatief voor de totaal opgeloste concentratie aan metalen. Het Biotic Ligand Model (BLM) voorspelt de binding van het metaal aan aquatische organismen, rekening houdend met de verschijningsvorm van het metaal, binding van andere ionen aan het organisme en gevoeligheid van het organisme.

Deze nieuwe inzichten worden momenteel verwerkt in de Europese risicobeoordelingen (kader REACH wetgeving) van koper, zink en nikkel. Verder biedt de Kaderrichtlijn Water mogelijkheden voor locatiespecifieke risicobeoordeling, zij het dat op dit moment nog geen methodiek is voorgeschreven. Het gebruik van BLM – zoals hierboven beschreven - maakt watertype afhankelijke effectvoorspelling van metalen mogelijk. Hoewel de discussies over de nieuwe risicogrenzen voor de genoemde metalen nog niet zijn afgerond, valt te verwachten dat deze discussies zullen leiden tot een methodologie die niet alleen met een beperkte inspanning in de praktijk kan worden gebracht, maar die ook een beter beeld zal geven van daadwerkelijk optredende ecologische risico's. Door waterbeheerders wordt dit nu voortvarend opgepakt en de monitoringprogramma's voor de KRW worden veelvuldig aangepast (Torenbeek en Pelsma, 2008). Dit betekent wel dat de BLM's beschikbaar moeten komen c.q. geoperationaliseerd moeten worden voor directe toepassing voor monitoringsgegevens.

3 Werkwijze

3.1 Basisgegevens

Door Alterra is een database aangeleverd met daarin opgenomen de belangrijkste karakteristieken van oppervlaktewateren (zie figuur 1). Een voorbeeld van deze database is weergegeven in Tabel 1. Opgeloste concentraties betreffen waarden die zijn bepaald na 0,45µm filtratie.

Tabel 1: Eerste vijf records van de database met 1090 meetpunten die als invoer zijn gebruikt voor de speciatieberekeningen.

| Meetpunt | X | Y | datum | pH | Cu | DOC | Ca | Mg | Na | Cl | alkaliteit | Zn |
|----------|----------|----------|-----------|-----|------|--------|------|------|-------|------|------------|------|
| | coord. | Coord. | | | ug/l | mg C/l | mg/l | mg/l | mg/l | mg/l | | ug/l |
| 240 011 | 157873.5 | 364281.9 | 23-Aug-06 | 7.0 | 2.4 | 10 | 38.2 | 6 | 104.1 | 160 | | 170 |
| 240 011 | 157873.5 | 364281.9 | 11-Sep-06 | 7.0 | 1.3 | 4.1 | 35.2 | 6 | 109.2 | 150 | | 89 |
| 240 011 | 157873.5 | 364281.9 | 10-Oct-06 | 7.1 | 1.2 | 4.2 | 43.1 | 6.2 | 103.9 | 150 | | 120 |
| 240 011 | 157873.5 | 364281.9 | 05-Dec-06 | 6.7 | 1.9 | 6.6 | 29.8 | 4.6 | 70.9 | 120 | | 130 |
| 240 011 | 157873.5 | 364281.9 | 09-Jan-07 | 7.0 | 2.8 | 6.9 | 34.5 | 5.5 | 57.25 | 92 | | 170 |

3.2 Het Biotic Ligand Model

Met behulp van BLMs wordt een relatie gelegd tussen de opgeloste concentraties metalen, de gebiedseigen karakteristieken van dit water en de interactie met biota. In de huidige BLM formuleringen zijn opgelost organisch materiaal (DOC), de zuurgraad (pH) en de hardheid de belangrijkste factoren die deze interacties sturen. Als uitkomst geeft de BLM een watertype-specifieke afleiding van een kwaliteitsnorm, zoals een No Effect Concentration (NOEC). Deze kan dan worden vergeleken met de generiek geldende norm. Op deze manier kan de mate van het ecologisch risico worden bepaald.

De eerste stap is het uitvoeren van een zogenaamde speciatieberekening. Op basis van bovengenoemde eigenschappen van het oppervlaktewater moet berekend worden wat de verdeling is van het metaal over verschillende fasen. Uiteindelijk wordt de vrije ion concentratie (Me^{2+}) gebruikt voor de bepaling van de sorptie aan het biotisch ligand (=organisme). De BLM formuleringen die in dit onderzoek zijn gebruikt voor koper en zink zijn gevalideerd. Aangezien bij deze validatie het chemische speciatiemodel WHAMVI (Tipping, 1998) is gebruikt, geniet het de voorkeur om dit model ook voor dit onderzoek te gebruiken voor het uitvoeren van de speciatieberekeningen van de aangeleverde meetgegevens.

De oorspronkelijke toxicologische basis van BLMs is het principe dat de kieuwen van vissen bijzonder gevoelig zijn voor metaal toxiciteit (Pagenkopf, 1983; Janes and Playle, 1995). Op basis van toxicologische testen en chemische speciatieberekeningen aan het blootstellingsmedium kunnen BLMs worden afgeleid voor verschillende soortgroepen. Toxiciteitsdata kunnen zo gecorrigeerd worden voor biobeschikbaarheid. Wanneer gegevens aanwezig zijn voor voldoende soorten, kunnen de data worden gebruikt om species-sensitivity-distributions (SSD) af te leiden voor een specifiek watertype. Dit is een relatie tussen de concentratie van een metaal en de potentieel aangetaste fractie van soorten.

In principe wordt de BLM afgeleid voor een specifiek metaal en een specifieke aquatische soort. Er zijn acute en chronische formuleringen. Een aantal van deze BLMs is in het kader van de Risk Assessment Reports (RAR) van de EU reeds gevalideerd.

Kanttekeningen bij BLMs

BLMs gaan uit van een aantal aannames, waaronder (De Koning & Vijver, 2006; Hassler & Wilkinson, 2003):

- het systeem is in evenwicht, dat wil zeggen dat bij opname van organismen de chemische evenwichten niet veranderen;
- biologische adaptatie en processen zoals excretie en interne verdeling spelen geen belangrijke rol;
- opname door voedsel is niet bepalend.

Bij toepassing van BLMs is het goed om te realiseren dat deze aannames niet altijd op moeten worden toegepast. Ondanks de genoemde kanttekeningen is BLM op dit moment de benadering die het meeste recht doet aan de realiteit van locatiespecifieke effecten, en bovendien goede overeenstemming geeft met experimentele gegevens.

De onzekerheden van bijvoorbeeld de voorspelde HC5 waarden hangen samen met de variatie rond waterkarakteristieken. De meest doorslaggevende onzekerheden worden vertaald door de waarden van DOC en pH in oppervlaktewater. Grote rivieren bevatten ongeveer 2 tot 5 mg/L DOC, meren en kanalen 4,5-11 mg/L, stromen en sloten 11-35 mg/L (Hulskotte et al., 2007). De toxiciteit in die verschillende watertypen verschillen dan ook sterk van elkaar.

De onzekerheden van een aantal bovengenoemde BLMs zijn onderzocht door onder andere Vijver & De Koning, 2007. Zij voerden gevoeligheidsanalyses uit op de inputparameters van enkele BLMs, voornamelijk koper-BLMs, in zes verschillende watertypen. Zij concludeerden dat de standaard monitoringsprogramma's in beginsel voldoende informatie leveren om BLMs te kunnen toepassen. De watersamenstelling kan in veel gevallen worden gestandaardiseerd volgens een normale verdeling. Dit geldt niet voor DOC en pH. Deze parameters bleken het meest gevoelig te zijn voor de berekende uitkomsten. De laagste HC5 waarden (= meest gevoelig) werden afgeleid voor grote rivieren, zandbronnen en zure meren. Met de BLM modellering kan de onzekerheid in lokale beschikbaarheid worden teruggebracht, waardoor de betrouwbaarheid van normafleiding voor metalen wordt vergroot.

3.3 Uitvoering van de berekeningen

Stap 1:

Berekening van de chemische speciatie per record voor de metalen koper en zink: berekend worden de vrije metaalconcentraties en de organische en anorganisch gecomplexeerde concentraties op basis van de specifieke watersamenstelling van elk record. Voor niet-geanalyseerde parameters worden de volgende waarden in de berekeningen gebruikt: $\text{SO}_4=1$ mg/l; $\text{CaCO}_3=100$ mg/l; $\text{K}=1$ mg/l; %HA= 10%; $\text{S}=1 \cdot 10^{-10}$ mg/l. De speciatieberekeningen zijn uitgevoerd met het model WHAM VI (Tipping, 1998). Er is een koppeling gelegd naar de database, zodanig dat de invoer voor dit model direct wordt uitgelezen uit de database van meetpunten.

Stap 2.

Voor 8 taxonomische groepen, vertegenwoordigd door circa 27 soorten (afhankelijk van het metaal) wordt per record (=meetpunt) een genormaliseerde NOEC berekend. Hiervoor is een toxicologische database nodig waarin NOECs zijn bepaald voor acute en chronische blootstelling voor verschillende organismen voor de verschillende metalen. Deze onderliggende toxiciteitsdata zijn afkomstig van de onderzoeken die zijn gepubliceerd in de EU-RAR voor koper en zink. Voor dit onderzoek is toxiciteitsdatabase voor zink bovendien uitgebreid met gegevens van Sprang et al., 2009 voor zes taxonomische groepen (7 vissen, 2 rotifera, 1 insect, 4 crustacea, 2 mollusc, 2 alg). Het gaat hier om zowel chronische als acute toxiciteitsdata. Dit betreft in totaal 135 records aan toxiciteitsgegevens. Voor de berekeningen van de genormaliseerde NOECs zijn er dus maar liefst ruim 294.000 berekeningen uitgevoerd (135 records x 1090 meetpunten x 2 metalen).

Bij de BLM berekeningen voor de verschillende meetpunten moet eerst de chemische speciatie van het bewuste oppervlaktewater vergeleken worden met de chemische speciatie van het medium waarin de bewuste toxiciteitstest van het specifieke organisme voor het bewuste metaal heeft plaatsgevonden. De afgeleide NOEC wordt dus als het ware genormaliseerd naar de karakteristieken van het meetpunt. Er wordt berekend welk deel van het biotisch ligand (=organisme) wordt bezet bij die specifieke speciatie. De ligandbezetting, of de EC50-activiteit, wordt daartoe met WHAM VI teruggerekend naar de NOEC-concentratie van het metaal voor het betreffende record. De HC5 wordt vervolgens weer uitgedrukt in µg/l voor koper en zink, om een vergelijking met de geldende waternormen (MTR; maximaal toelaatbaar risico) mogelijk te maken.

Bij de berekening van de genormaliseerde NOEC wordt rekening gehouden met:

- de intrinsieke gevoeligheid van de soort. Dit is de fractie van de ligandbezetting bij een NOEC (uitgedrukt als activiteit).
- de competitie tussen het metaal en andere parameters om de binding aan het biotische ligand te berekenen. Hierbij worden de gemeten danwel geschatte parameters per record gebruikt. voor binding van Ca, Mg, Na, K, H en metalen aan biotische liganden worden up-to-date constanten afgeleid van toxiciteitsproeven gebruikt.

Een voorbeeld van het gehanteerde script voor deze onderlinge interacties is hieronder weergegeven.

```
#Acuut: Crustacea BLM
#INPUT BLMparameters
K.CuBL<-10^8.02
K.CuOHBL<-10^7.32
K.CuCO3BL<-10^7.01
K.HBL<-10^5.40
K.NaBL<-10^3.19
K.CaBL<-3.47
K.MgBL<-3.58
f50CuBL<-0.47
Cu.EC50.DaphniaAcuut<- f50CuBL/(1-f50CuBL)*
(1+K.CaBL*CaAct.X+K.MgBL*MgAct.X+K.NaBL*NaAct.X+K.HBL*HAct.X)/
(K.CuBL + (K.CuOHBL * K.CuOH * OHAct.X) + (K.CuCO3BL * K.CuCO3 * CO3Act.X))
```

Figuur 2. Fragment uit het rekenscript voor koper>acuut>Daphnia>EC50:

Stap 3.

De genormaliseerde NOEC's worden per soort en per eindpunt (bv. reproductie, groei of overleving) gemiddeld. Vervolgens wordt per soort het gevoeligste eindpunt gekozen. Dit wordt gebruikt voor de constructie van de SSD-curven. Daaruit worden de HC5 en de PAF berekend.

4 Resultaten

De uitkomsten van de berekeningen zijn te omvangrijk om hier te presenteren. De resultaten zijn naast deze toelichtende rapportage verstrekt aan Alterra voor verdere presentatie en discussie. Er zullen enkele voorbeelden worden getoond van het type uitvoer en van de SSD constructie.

4.1 Chemische speciatie berekeningen

Bij de chemische speciatie berekeningen worden alle species (=bindingsvormen) berekend die voorkomen bij die samenstelling van het betreffende meetpunt (=record). Omdat dit een zeer omvangrijke database is, is een selectie gemaakt van de - voor de BLM berekening relevante - parameters. Hieronder vallen H^+ , K, Cl, CO_3 , Ca, Mg en alle zouten van koper en zink. Voor het BLM is de vrije ionactiviteit van koper en zink van belang. In Tabel 2 is een statistische samenvatting gegeven van de range aan concentraties die in de database voor koper en zink worden aangetroffen, alsmede de berekende vrije ion activiteiten.

Tabel 2. Samenvatting van meetwaarden en berekende vrije ion activiteiten.

| | Cu-opgelost ug/l | Cu ²⁺ ug/l | Zn-opgelost ug/l | Zn ²⁺ ug/l |
|-----------|---------------------|--------------------------|---------------------|--------------------------|
| Gemiddeld | 2.7 | 0.001 | 47.1 | 12.7 |
| St. dev. | 1.5 | 0.003 | 78.7 | 30.3 |
| Minimum | 0.6 | 4.26E-08 | 3 | 0.066 |
| maximum | 13 | 0.051 | 1200 | 437 |

4.2 Normalisering No Effect Concentration (NOEC)

Zoals is toegelicht wordt de afgeleide NOEC genormaliseerd naar de karakteristieken van het meetpunt. Er wordt berekend welk deel van het biotisch ligand (=organisme) wordt bezet bij die specifieke speciatie. De ligandbezetting wordt daartoe teruggerekend naar de NOEC-concentratie van het metaal voor het betreffende record. In tabel 3 wordt als voorbeeld de NOECs gepresenteerd voor alg, daphnia en vis (chronisch). Ter vergelijking van de getalswaarden is de HC5 weergegeven, eveneens in $\mu g/l$.

Tabel 3. Eerste vijf records van de NOEC berekening voor koper voor alg, daphnis, vis.

| | NOEC Chronisch Alg | NOEC Chronisch Daphnia | NOEC Chronisch Vis | Ter vergelijking: HC5 (total aqueous concentration) |
|--------|--------------------------|------------------------------|--------------------------|--|
| Page 1 | ug/L Cu | ug/L Cu | ug/L Cu | ug/L |
| 1.00 | 42.38 | 49.28 | 57.02 | 21.52 |
| 2.00 | 17.47 | 20.44 | 23.90 | 8.85 |
| 3.00 | 16.59 | 20.34 | 24.72 | 9.20 |
| 4.00 | 33.50 | 36.27 | 36.74 | 12.86 |
| 5.00 | 30.71 | 37.22 | 43.59 | 15.14 |

In tabel 4 is een voorbeeld gegeven van de berekende HC5 waarden (molair en µg/l) voor zink. De bijbehorende potentieel aangetaste fractie is aangeduid als PAF.X.

Tabel 4. Eerste vijf records van de HC5 en PAF fractie voor zink.

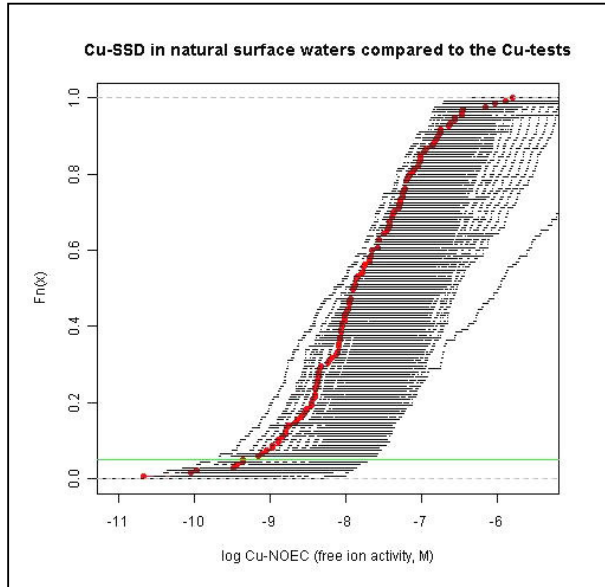
| Locatie ID | HC5.X | | Total aqueous concentration (µg/L): Zn | PAF.X |
|------------|-----------------------|-------------------------------------|--|-------|
| | free ion activity [M] | Total aqueous concentration (M): Zn | | |
| 1 | 1.08E-07 | 3.04E-07 | 19.90 | 0.26 |
| 2 | 1.08E-07 | 2.25E-07 | 14.69 | 0.33 |
| 3 | 1.02E-07 | 2.17E-07 | 14.16 | 0.34 |
| 4 | 1.20E-07 | 2.59E-07 | 16.92 | 0.42 |
| 5 | 9.70E-08 | 2.34E-07 | 15.28 | 0.47 |

Uit de resultaten blijkt dat voor koper geen van de monsters de berekende HC5 waarde overschrijdt. Voor zink worden op 382 locaties (=35%) de berekende HC5-waarden overschreden.

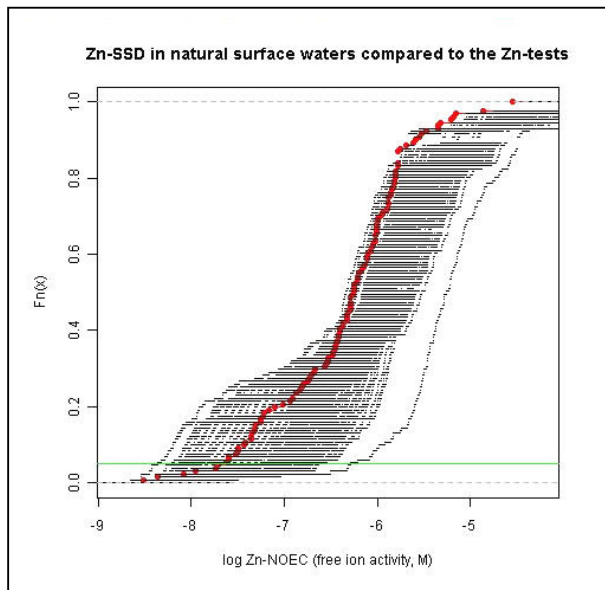
4.3 SSD-curven

De species sensitivity distribution, of SSD-curve, is een weergave van de potentieel aangetaste fractie soorten die zich bij de bijbehorende concentratie van het metaal voordoen. De HC5 (=5% aangetaste soorten; het zogenaamde 95% beschermingsniveau) kan hieruit worden afgelezen.

In de geconstrueerde curven (figuren 3 en 4) is met een rode lijn de curve weergegeven waarop de normstelling is gebaseerd. Hier zijn de bekende MTR-waarden voor oppervlaktewater uit afgeleid. De horizontale groene lijn is de 5% PAF, de kruising met een curve is de bijbehorende HC5 concentratie, uitgedrukt in vrije ion activiteit (molair). NB: In de SSD-figuren zijn alle data te zien, maar bij de berekening van HC5 worden dus eerst NOECs gemiddeld zoals hierboven beschreven.



Figuur 3. SSD curven voor koper voor 1090 meetpunten.



Figuur 4. SSD curven voor zink voor 1090 meetpunten.

Referenties

- De Koning, A., M.G. Vijver (2006). Biotic ligand models voor de effectmodellering van metalen in enkele Nederlandse oppervlaktewateren. CML rapport 168, Leiden.
- Deleebeeck, N.M.E., K.A.C. De Schamphelaere, D.G. Heijerick, B.T.A. Bossuyt, C.R. Janssen (2005) Development and validation of biotic ligand models for predicting nickel toxicity to fish, daphnids and algae. Draft final report. Laboratory for Environmental Toxicology and Aquatic Ecology, Ghent University.
- Deleebeeck, N.M.E., K.A.C. De Schamphelaere, C.R. Janssen (2007) A bioavailability model predicting the toxicity of nickel to rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) and fathead minnow (*Pimephales promelas*) in synthetic and natural waters. *Ecotoxicology and Environmental Safety* 67, 1-13
- De Schamphelaere, K.A.C., D.G. Heijerick, C.R. Janssen (2002) Refinement and field validation of a biotic ligand model predicting acute copper toxicity to *Daphnia magna*. *Comp. Biochem. Phys. C* 133, 243-258.
- De Schamphelaere, K.A.C., C.R. Janssen (2004) Development and field validation of a biotic ligand model predicting chronic copper toxicity to *Daphnia magna*. *Environ. Toxicol. Chem.* 23(6)1365-1375.
- De Schamphelaere, K.A.C., C.R. Janssen (2006) Bioavailability models for predicting copper toxicity to freshwater green microalgae as a function of water chemistry. *Environ. Sci. Technol.* 40(14)4514-4522.
- De Schamphelaere K.A.C., Lofts S. & Janssen C.R. (2005b) Bioavailability models for predicting acute and chronic toxicity of zinc to algae, daphnids, and fish in natural waters. *Environ. Toxicol. Chem.* 24(5)1190-1197.
- EPA (2001) Update of ambient water quality criteria for cadmium. United States Environmental Protection Agency. Washington D.C. Report no EPA-822-R-01-001, April 2001.
- European Commission (2008) European Union Risk assessment Reports on Zinc and Zinc compounds, Final report may 2008, Part 1 Environment, European Chemicals Bureau, prepared by the Netherlands in the context of Council Regulation (EEC) No. 793/93, report no. R072_0805_env.
- Hassler, C.S., K.J. Wilkinson (2003). Failure of the biotic ligand and free ion activity models to explain zinc bioaccumulation by *Chlorella kesslerii*. *Environ. Toxicol. Chem.* 3:620-626.
- Hulskotte, J.H.J., P.H. Jongbloed, P. de Vries, W.A.J. Appelman, D.C. Heslinga (2007). Afvalwaterketenonderzoek. Emissiebronnen, maatregelen en effecten op oppervlaktewater in het verzorgingsgebied van twee RWZI's in het beheersgebied van waterschap Aa en Maas. TNO rapport 2007-A-R0326/B, Utrecht.
- Janes N, Playle RC (1995) Modeling silver binding to gills of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Environ Toxicol Chem* 1995;14:1847-58.
- Pagenkopf, G.K. (1983) Gill surface interaction model for metal toxicity to fishes; role of complexation, pH and water hardness. *Environ. Sci. Technol.* 17:342-347.
- Tipping, E. (1998) Humic Ion-Binding Model VI: an improved description of the interactions of protons and metal ions with humic substances. *Aquatic Geochemistry*, 4, 3-48.
- Torenbeek, R. en T. Pelsma (2008) Protocol Toetsen en Beoordelen voor de operationele monitoring en toestand- en trendmonitoring. Wergroep MIR, 2008.
- Vijver, M.G., A. de Koning (2007) Quantifying HC5 using BLMs for Cu in different water types according different extrapolation options: sensitivity and uncertainty analysis. CML rapport 175, Leiden.
- Vink, J.P.M. (2009). The origin of speciation: trace metal kinetics and bioaccumulation by *Oligochaetes* and *Chironomids* in undisturbed water-sediment interfaces. *Environmental Pollution* 157:519-527.
- Voluntary Risk Assessment Report (2005) EU risk assessment copper, draft 5 May 2005.