



Optimale biofoulingcontrole van
Mytilopsis leucophaeata door chlorering
op BASF Antwerpen NV

ANNICK.VERWEEN@UGENT.BE

OKTOBER 2008

INHOUDSOPGAVE

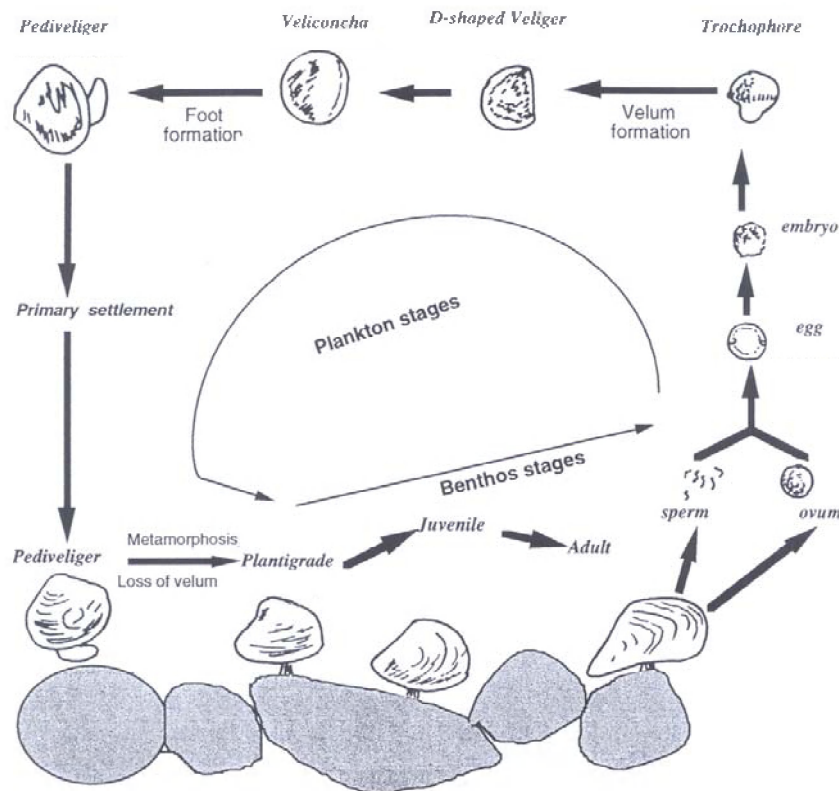
INLEIDING.....	1
1. Probleem.....	2
2. <i>Mytilopsis leucophaeata</i>	3
3. Chlorering.....	4
 OPTIMALE DOSERING OM ADULTE MOSSELEN TE BESTRIJDEN	8
1. Hoe beïnvloedt chlorering adulte mosselen?	9
2. Respons van <i>M. leucophaeata</i> bij chlorering	9
3. Klepbeweging van <i>M. leucophaeata</i> bij chlorering	12
4. Controle van fouling door <i>M. leucophaeata</i> met natriumhypochloriet	13
5. Hoe efficiënt is onderbroken chlorering om adulte mosselfouling te bestrijden?.....	15
6. Besluit	18
 OPTIMALE DOSERING OM NIEUWE FOULING TE BESTRIJDEN	21
1. Waarom nieuwe biofouling vermijden?	22
2. Voorspellen van larvale aanwezigheid van <i>M. leucophaeata</i>	24
3. Effect van temperatuur en saliniteit op <i>M. leucophaeata</i> larven.....	26
4. Toxiciteit van hypochloriet in de biofoulingcontrole van <i>M. leucophaeata</i> embryo's	29
5. Besluit	31
 CONCLUSIE: OPTIMALE GECOMBINEERDE DOSERINGSPROGRAMMA.....	33
 REFERENTIES	37
 BIJLAGE 1: EFFECT VAN CHLORERING OP <i>CORDYLOPHORA CASPIA</i>	42
 BIJLAGE 2: SITUATIE VAN HET VOLKERAK-ZOOMMEER – GEVOLGEN VOOR BASF ANTWERPEN NV	51
 BIJLAGE 3: VORMT <i>LEGIONELLA</i> NOG EEN BEDREIGING?	54

HOOFDSTUK 1

INLEIDING

1. PROBLEEM

Van alle organismen die fouling veroorzaken in koelwaterinstallaties veroorzaken mosselen de meest ernstige problemen (Rajagopal et al., 1996). Ongecontroleerde groei in de condensor regio's kan de normale werking van de energiecentrale verstoren, ongeacht zijn geografische locatie (Claudi & Mackie, 1994). De reden waarom mosselen efficiënte foulers zijn moet gezocht worden in hun levenscyclus (Fig. 1). Er zijn 2 belangrijke levensstadia: (1) van bevrucht ei tot ze zich gaan vasthechten, zijn mosselen pelagische¹ **larven**, (2) zodra ze vastgehecht zijn, worden ze benthische² **adulten**.



Figuur 1: Schematische levenscyclus van mosselen (naar Ackerman et al., 1994).

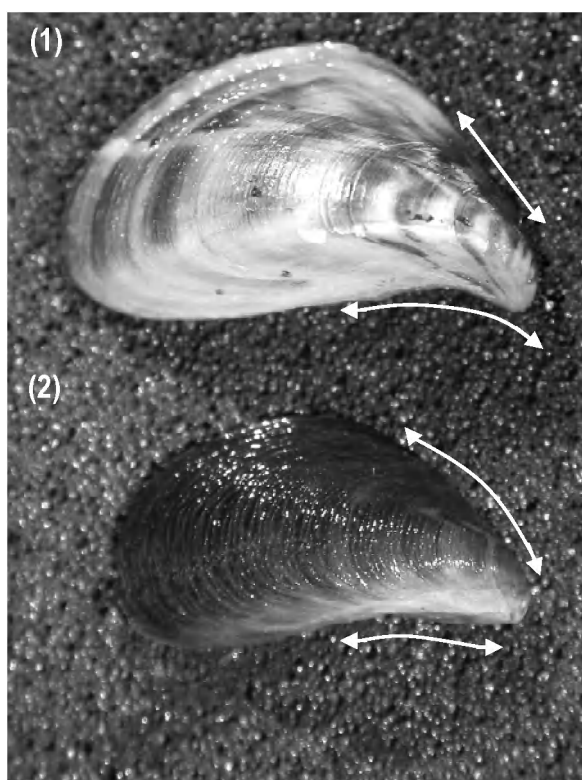
Na externe bevruchting ontwikkelen de vrijzwemmende larven in de waterkolom. Hun planktonische natuur zorgt voor een eenvoudige verspreiding langs verschillende wateren; de larven worden verspreid door de stromingen tot ze zich vasthechten. Omdat deze larvale stadia zeer klein zijn (< 500 µm) bestaan er quasi geen menselijke barrières. De **planktonische stadia hebben een zachte schelp** waardoor ze zich moeilijk kunnen beschermen. Eenmaal na de vasthechting echter ontwikkelt de **adulte mossel een harde beschermende schelp**. In een eerste stadium gebeurt deze vasthechting aan filamenteuze structuren maar later worden deze primaire vasthechtingsplaatsen verruild voor permanente plaatsen op harde substraten.

¹ **Pelagisch** = levend in de waterkolom, weg van de bodem en de kust
² **Benthisch** = levend op de bodem van wateren

Tenzij vasthechting snel gedetecteerd wordt, is het mogelijk voor de mossel om onopgemerkt te groeien tot een grootte waarbij verstopping kan optreden. Adulte mosselen kunnen hun beschermende schelp sluiten en byssusproductie stoppen om hun lichaam te isoleren van veranderingen in de omgeving (Khalanski & Bordet, 1981). Daardoor wordt het moeilijk om mosselen te verwijderen eenmaal ze vastgehecht zijn in het systeem.

Momenteel worden de adulte mosselen, dus de bestaande biofouling, bestreden zonder daarbij de nieuwe biofouling door binnenkomende larven te vermijden. In deze intensieve literatuurstudie worden de bestaande controlemaatregelen om biofouling van adulte *Mytilopsis leucophaeata* door chlorering te controleren gegroepeerd en gekoppeld aan het experimentele doseringsprogramma, opgesteld om de binnenkomende larven te bestrijden. Op deze manier wordt gezocht naar een **optimaal doseringsprogramma ter bestrijden van biofouling door *M. leucophaeata*.**

2. MYTILOPSIS LEUCOPHAEATA



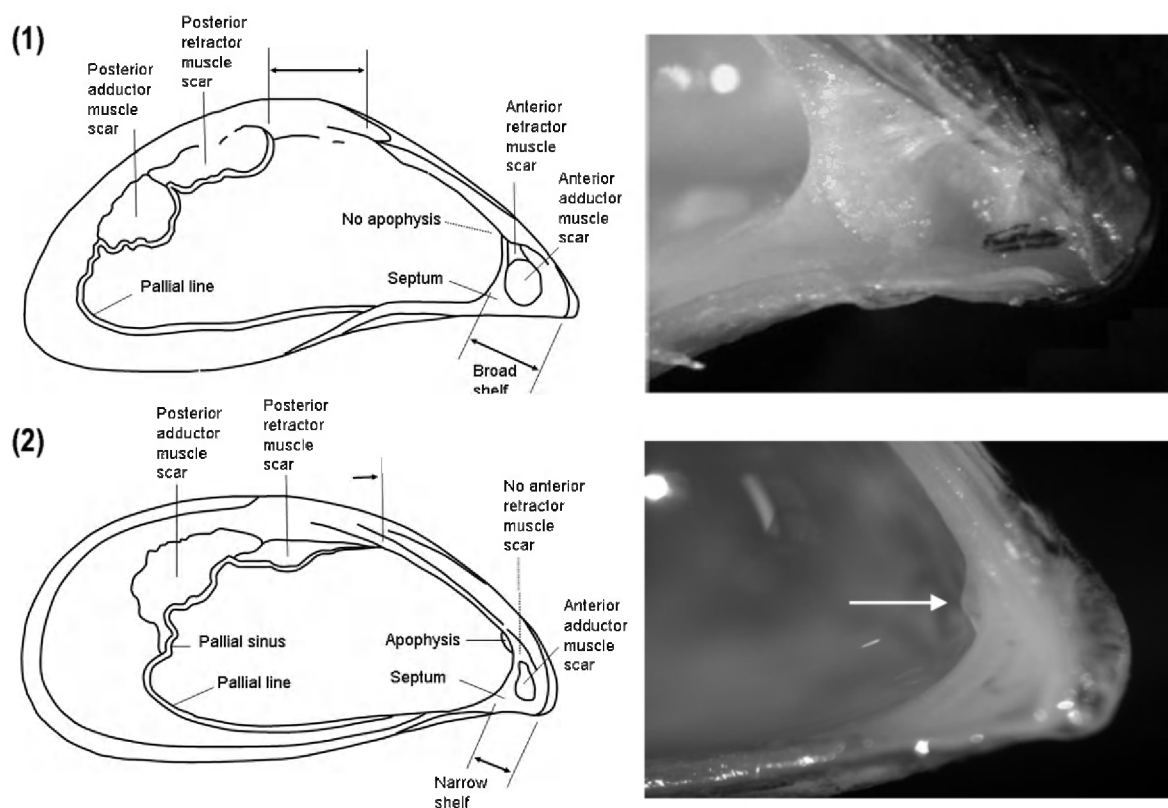
Mytilopsis leucophaeata (Conrad, 1831), de brakwatermossel, veroorzaakt biofoulingproblemen in de koelwatersystemen van verschillende industriële sites in Noordwest Europa (Rajagopal et al., 1994; Verween et al., 2005). *M. leucophaeata* is een mosselsoort (Mollusca, Bivalvia, Veneroida, Dreissenidae), resistent aan een brede waaier van oligo- tot mesohaliene condities. Alhoewel het genus *Mytilopsis* meer dan 60 miljoen jaar geleden in Europa voorkwam, verdween het na zijn expansie naar Centraal Amerika. De soort werd in het begin van de 19^e eeuw opnieuw geïntroduceerd in Europese brakwaters vanuit de zuidkust van de VS tot Tampico (Mexico). Het was echter pas toen *M. leucophaeata* een biofoulingprobleem werd in de jaren 90 dat de aandacht op deze relatief onbekende soort werd gevestigd.

Fig. 2: Buitenste linker schelphelft van (1) *Dreissena polymorpha* en (2) *Mytilopsis leucophaeata*.

M. leucophaeata is een eerder trage natuurlijke kolonisator, die menselijke factoren zoals bv. scheepvaart nodig heeft voor zijn verspreiding. Eenmaal gevestigd echter heeft de soort alle kenmerken om een ernstige foulingsoort te worden. Expansie langs Europees brakwater vindt nog steeds plaats en is aan het versnellen

door bv. ballastwater in en fouling op de romp van schepen, met recente ontdekkingen van de soort in de Zwarte Zee, de monding van de rivier Guadalquivir in Spanje en de Baltische Zee in Finland.

Bij het determineren van de soort is er vaak verwarring met de zoetwater zebromossel *Dreissena polymorpha* (Pallas). Temperatuurs- en saliniteitstoleranties overlappen bij beide soorten, waardoor ze samen kunnen voorkomen (Verween et al., in press). Ze hebben ook een aantal gemeenschappelijke kenmerken, zoals het voorkomen van een gestreept patroon, vnl. bij de juvenielen. De schelpvorm is vrij verschillend (Fig. 2), maar toch moeilijk te onderscheiden bij juvenielen. Het onderscheid is echter eenvoudig na te gaan door het voorkomen van een **apophyse** bij *M. leucophaeata* (Fig. 3). Dit is een kleine, driehoekige of afgeronde 'tand' in de buurt van de umbo die meestal zelfs met het blote oog zichtbaar is. Deze apophyse is afwezig bij *D. polymorpha* (Verween et al., in press).



Figuur 3: Binnenste linkerschelp van (1) *Dreissena polymorpha* en (2) *Mytilopsis leucophaeata* met een gedetailleerd beeld van de umbo (1) zonder en (2) met apophyse.

3. CHLORERING

De meest algemeen gebruikte antifouling procedure bij gebruikers nabij Noordwest Europese kusten en estuaria is continue lage of onderbroken chlorering met hypochloriet (Jenner et al., 1998; BREF, 2000; Rajagopal et al., 2003). Chlorering wordt beschouwd als de **Best Beschikbare Techniek (BBT)** in industriële koelwatersystemen binnen de voorwaarden van het industriële koelproces (IPPC, 2000).

Bij **continue chlorering** wordt een continue, lage dosis aan oxidanten aan het koelwater toegevoegd, voldoende om vasthechting en groei van foulingorganismen te beperken door chronische toxiciteit maar zonder een acute impact op de koelcircuits zelf (Taylor, 2006). Echter, door de pH van brak of zeewater heeft een groot deel van de gebruikt oxidanten een beperkte efficiëntie waardoor een grote hoeveelheid gedoseerd moet worden om de benodigde letale toxiciteit in het water te bekomen. Om biofouling te beperken wordt meestal gedoseerd bij 0.5-1.5 mg/l Cl₂ zodat een residueel oxidantniveau van 0.1-0.2 mg/l in het water terecht komt. Deze reductie wordt veroorzaakt door de oxidantvraag van het brak of zeewater (Allonier et al., 1999).

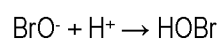
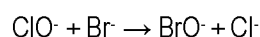
Bij **onderbroken chlorering** wordt chloor periodiek gedoseerd aan hogere concentraties om zo organismen te doden rekening houdend met dosis en contacttijd (Rajagopal et al., 2002a, b). Belangrijke criteria in de keuze tussen continue of onderbroken dosering zijn economische afwegingen en lozingsnormen (Mattice & Zittel, 1976).

Bezorgdheid is ontstaan over het al dan niet vrijkomen van **chloorhoudende bijproducten (CBPs)** en de eventuele schade die ze kunnen aanrichten in het natuurlijke milieu. Het is de chlorering van organische bestanddelen zoals aminozuren in het natuurlijke water die leidt tot de vorming van de bijproducten (Jenner et al., 1997). Het dient echter benadrukt te worden dat de aanwezigheid van CBPs in oppervlaktewateren niet alleen te wijten is aan de chlorering van koelwatersystemen. Ook landbouw en natuurlijke productie dragen bij tot de vorming van CBPs (IPPC, 2000) en chloroform en bromoform komen zelfs natuurlijk voor in zeewater waar ze geproduceerd worden door algen. De wetenschappelijke literatuur levert omtrent CBPs beperkte informatie, waardoor veel onduidelijkheden blijven bestaan wat ruimte geeft aan speculatie (Taylor, 2006). Trihalomethanen (THMs) zijn de belangrijkste CBPs terwijl andere producten belangrijk zijn door hun mogelijke toxiciteit voor aquatische organismen: haloacetonitrielen (HANs), halofenolen (HPhs) en haloazijnzuren (HAAs). Het type en de relatieve hoeveelheden CBPs varieert met de hoeveelheid organisch materiaal van het water en de anorganische soorten aanwezig (Fig. 4).

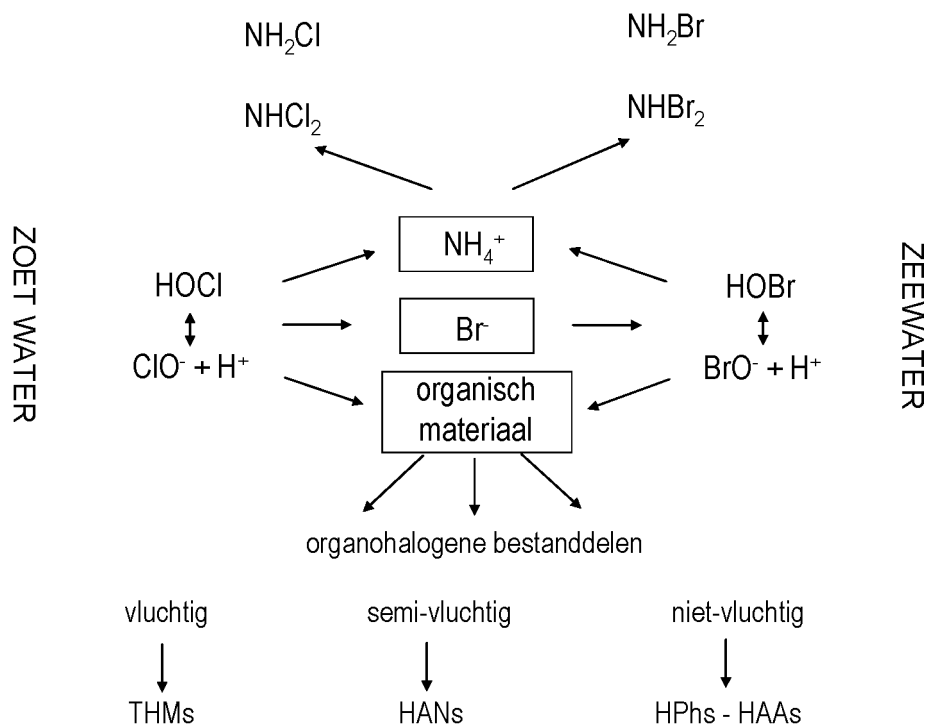
Ook al neemt de toxiciteit van het toegepaste oxiderend product snel af na verdunning met natuurlijk water, daarom gebeurt dat niet noodzakelijk ook met de meer chemisch stabiele bijproducten.

De CBPs kunnen onderverdeeld worden in vier klassen:

1. **Vrije halogenen.** De hydrolyse van chloor opgelost in water produceert hypochloorzuur (HOCl) dat dissocieert in het hypochlorietion (OCl⁻), afhankelijk van de pH. Bij pH 7 en 20°C is het evenwicht quasi 5% HOCl en 25% OCl⁻. HOCl en OCl⁻ vormen vrije chloor. In brak en zeewater reageert vrije chloor met het bromide ion en vormt vrije broom, bestaand uit HOBr en BrO⁻:



2. **Haloaminen.** In de aanwezigheid van ammonium of organische amines vormen de vrije halogenen chlooramines en broomamines. Vrije halogenen en haloamines zijn oxiderende bestanddelen. Vrije halogenen reageren met het organisch materiaal in het water en vormen organohalogeneerde bestanddelen (OX) zonder oxiderende eigenschappen.
3. **Trihalomethanen.** Dit zijn de meest vluchtige organische bestanddelen. In gechloreerd brak of zeewater bestaan ze vnl. uit bromoform (CHBr_3) en bromochloromethaan.
4. In gechloreerd natuurlijk water worden ook **haloacetonitrielen (HANs)**, **halofenolen (HPhs)** en **haloazijnzuren (HAAs)** frequent gedetecteerd.



Figuur 4: Schema van de belangrijkste reacties bij chlorering van natuurlijke wateren.

De concentratie aan CBPs gemeten in de effluenten zijn meestal veel lager dan de acute toxiciteitsdata uit literatuur, hoewel deze studies gelimiteerd zijn. Lange termijn blootstellingstudies die de chronische toxiciteit van CBPs bestuderen zijn nog niet gepubliceerd (Jenner et al., 1997).

Een belangrijk nadeel van chlorering is ook de **niet-specifieke toxiciteit** en het soortafhankelijke toxiciteitsniveau; het is onmogelijk de te bestrijden soort te doden zonder ook andere organismen te beschadigen en sommige soorten, zelfs van hetzelfde fyllum, zijn meer immuun tegen chlorering dan anderen.

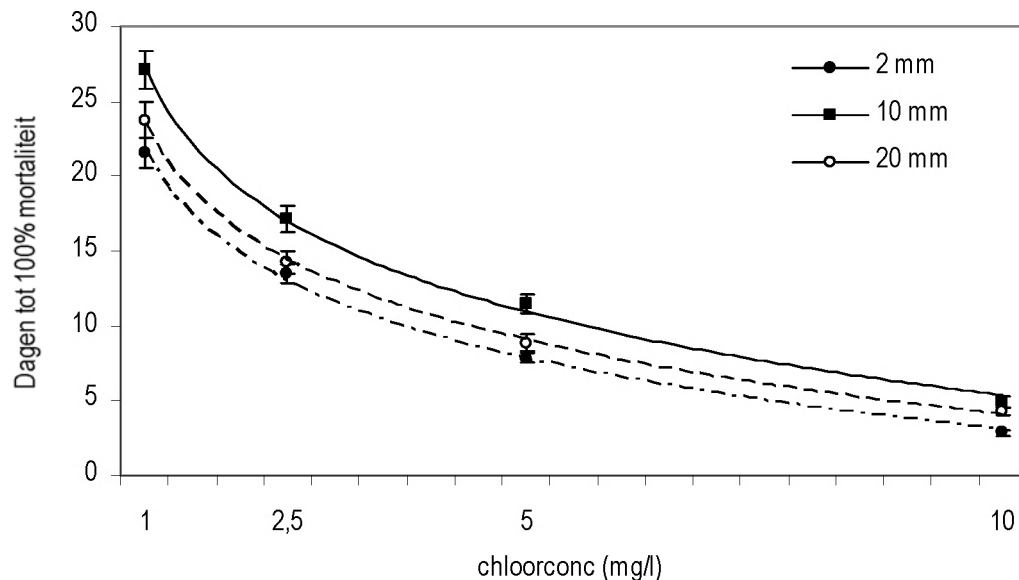
De nood aan enige vorm van biofoulingcontrole in koelwaterinstallaties is absoluut. Meestal worden biociden gebruikt, met het onvermijdelijke risico op ongewenste biologische problemen in het ontvangende

natuurlijke water. De dynamiek van de chloorchemie levert een schijnbaar ideale oplossing, waarbij de biocidale activiteit groot is in het koelwatersysteem maar quasi nihil na lozing in de omgeving door sterke verdunning. Het is vnl. de mogelijke bijkomende toxiciteit van de CBPs die voor onzekerheden en speculaties zorgt.

HOOFDSTUK 2

OPTIMALE DOSERING OM ADULTE MOSSELEN TE BESTRIJDEN

hoger dan bij andere mosselsoorten zoals de gewone mossel *Mytilus edulis* (Jensen, 1982) en *Dreissena polymorpha*, de zoetwater zebramossel (Jenner & Janssen-Mommen, 1993). Dit verschil kan mogelijk verklaard worden door het feit dat *M. leucophaeata* als brakwatersoort beter bestand is tegen extreme omstandigheden (Verween et al., in press).



Figuur 5: Aantal dagen tot 100% mortaliteit van verschillende grootteklassen van *M. leucophaeata* bij verschillende chloorconcentraties.

In werkelijkheid worden dergelijke hoge concentraties (10 mg/l) nooit gebruikt in energiecentrales. Echter, tijdens sluiting van een deel van het systeem zou een concentratie van 10 mg/l gedurende 7 dagen 100% mortaliteit veroorzaken. Onder normale omstandigheden wordt gebruik gemaakt van chlorering bij lagere dosissen, met concentraties steeds lager dan 1 mg/l. Onder deze omstandigheden wordt biofouling niet gecontroleerd door het doden van de mosselen, maar door interferentie met hun fysiologische activiteiten³.

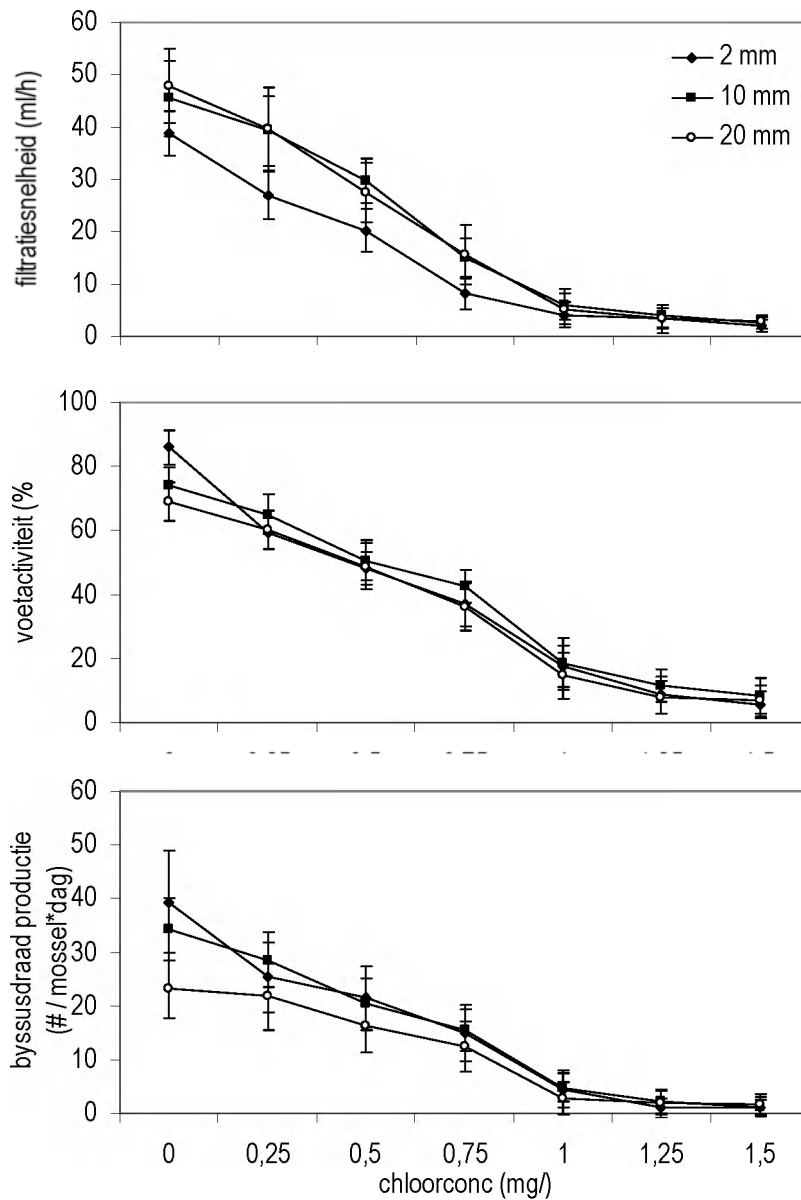
Experimenten hebben aangetoond dat **0.75 tot 1 mg/l de chloorrange** is waarbij **fysiologische activiteiten van *M. leucophaeata* kritisch beïnvloed** worden (Fig. 6). Filtratiesnelheid, voetactiviteit en byssusdraadproductie nemen af met toenemende chloorconcentraties met een grootteafhankelijk effect. De fysiologische activiteit nam sneller af in jonge mosselen bij alle geteste chloorconcentraties.

Jonge, kleine mosselen zijn actiever dan oudere en hebben dus hogere metabolische snelheden (Bayne et al., 1976), waardoor ze **sneller reageren op stress dan grotere mosselen**. Dit kan de mogelijkheid vergroten dat kleine, gechloreerde mosselen hun vasthechtingsplaats loslaten en zo weggespoeld worden

³ **Fysiologie** = de leer van de normale levensverrichtingen en –verschijnselen.

met het snelstromende koelwater. Deze kleine mosselen (≤ 2 mm) zorgen nog niet voor een verstopping van de warmtewisselaar.

Data tonen ook aan dat **mosselen zelfs chloor kunnen 'aanvoelen' bij lage concentraties (0.25 mg/l)** (Fig. 6).



Figuur 6: Fysiologische activiteit van verschillende grootteklassen van *M. leucophaeata* bij verschillende chloorconcentraties.

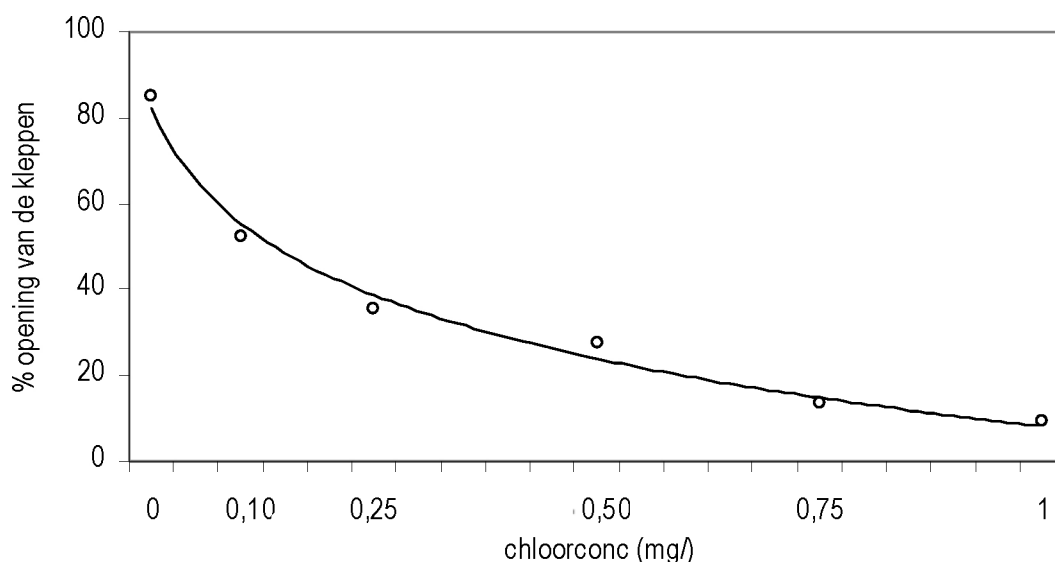
3. KLEPBEWEGING VAN *M. LEUCOPHAEATA* BIJ CHLORERING (RAJAGOPAL ET AL., 1997)

TESTCONDITIES

- Mossels geacclimatiseerd bij 20°C en 5 PSU gedurende 48h
- Grootte: 20 mm
- Chloorconcentraties: 0,1, 0,25, 0,5, 0,75 en 1 mg/l
- **Continue** dosering

Beweging van kleppen werd per mossel gemeten. De relatieve opening van de mossel (tussen open en dicht) werd grafisch weergegeven.

RESULTATEN EN DISCUSSIE



Figuur 7: Percentage schelpopening van *M. leucophaeata* bij verschillende chloorconcentraties.

Het percentage schelpopening neemt af met toenemende chloorconcentraties (Fig. 7). Deze reactie is vergelijkbaar met de afname van de andere fysiologische activiteiten bij verhoogde chloorconcentraties (Fig. 6). Er is een sterke correlatie tussen schelpopening en chloorconcentratie met 0,75 mg/l als limiet waarbij de openingsactiviteiten kritisch beïnvloed worden.

Bayne et al. (1976) suggereerde dat sensitieve receptoren in de mantelwand verantwoordelijk zijn voor het sluiten van de schelp. Deze data tonen duidelijk aan dat ***M. leucophaeata* de aanwezigheid van chloor voelt, zelfs bij heel lage concentraties zoals 0,1 mg/l**. Hij reageert daarop door zijn schelp met 31% te sluiten. Literatuur toont aan dat mosselen hun kleppen wel openen bij chloorconcentraties < 1 mg/l, maar dat ze zich minder snel voeden (White, 1966). Bij hogere chloorconcentraties sluiten ze hun kleppen en overleven

op voedselreserves en anaeroob metabolisme ⁴ tot de energie opgebruikt is of de metabolische afvalstoffen een toxisch niveau bereikt hebben.

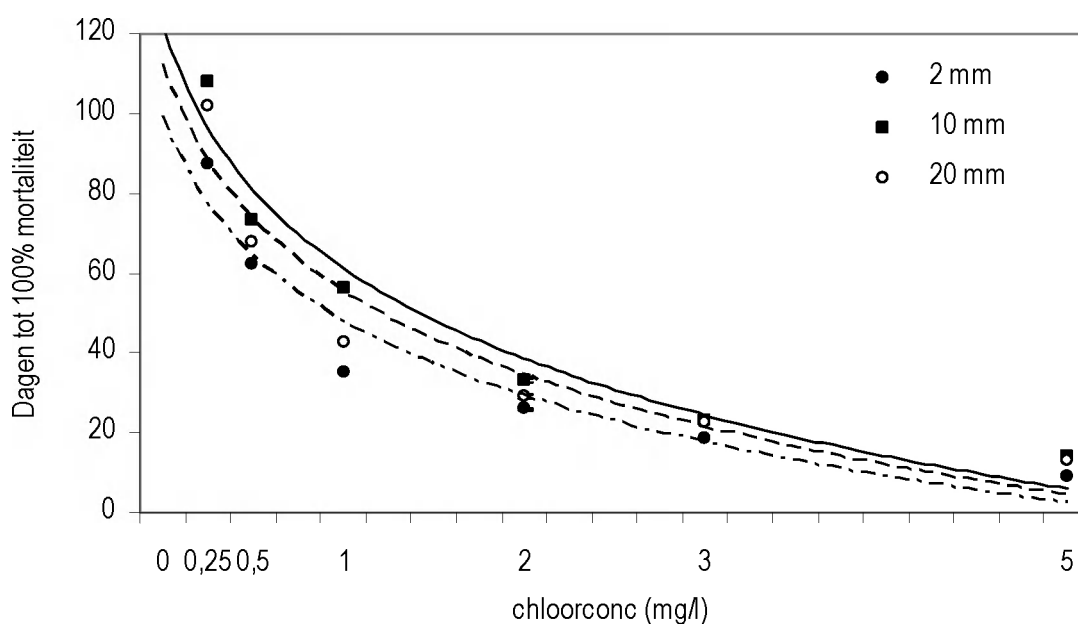
Deze studie toont aan dat een **continue dosering van 0.75 mg/l** nodig is om de mosselen continu hun **schelp te laten sluiten** zonder herstelfase.

4. CONTROLE VAN FOULING DOOR *M. LEUCOPHAEATA* MET NaOCl (RAJAGOPAL ET AL., 2002A)

TESTCONDITIES

- Mossels geacclimatiseerd bij 20°C en 5 PSU gedurende 2 weken
- Grootteklassen: 2, 10 en 20 mm
- Chloorconcentraties: 0.25, 0.5, 1, 2, 3 en 5 mg/l
- **Continue** dosering

RESULTATEN EN DISCUSSIE



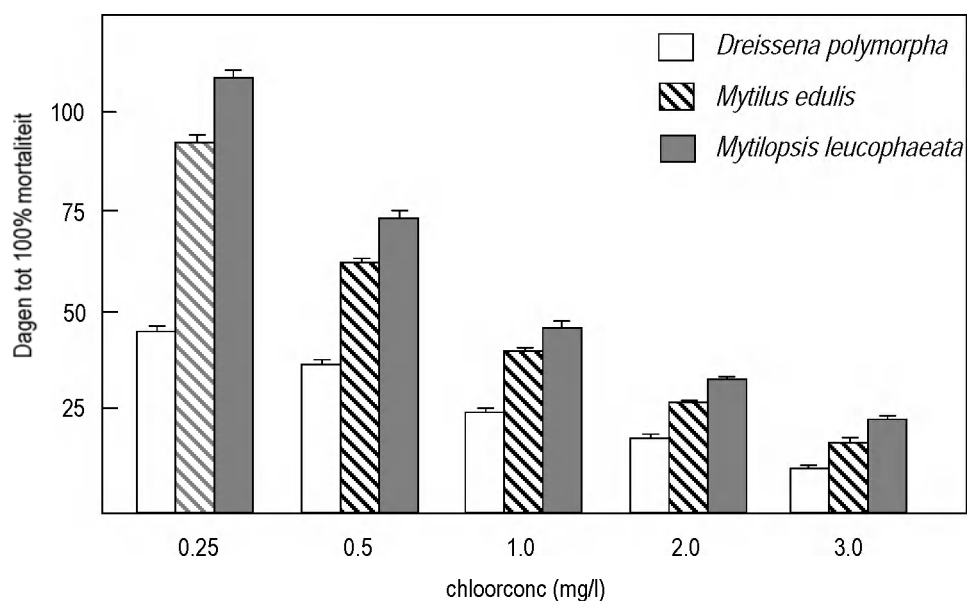
Figuur 8: Aantal dagen tot 100% mortaliteit van verschillende grootteklassen van *M. leucophaeata* bij verschillende chloorconcentraties.

Een **chloorconcentratie van 0.25 mg/l** was **significant minder toxisch** dan andere chloorconcentraties (Fig. 8). Net zoals in figuur 5 vertoont de middelste grootteklasse (**10 mm**) **de hoogste tolerantie** terwijl kleinere en grotere mosselen (2 en 20 mm) een grotere gevoeligheid vertonen. Deze resultaten zijn verschillend van deze bij *M. edulis*, waar tolerantie lineair stijgt met de grootte en deze bij *D. polymorpha*,

⁴ **anaeroob metabolisme** = stofwisseling zonder gebruik van zuurstof, het geheel van biochemische processen die plaats vinden in cellen en organismen.

waar grootte geen effect heeft. Deze vergelijking toont aan dat de **relatie tussen mosselgrootte en chloortoxiciteit verschillend is bij verschillende mosselsoorten.**

Mossels verzameld **gedurende de paaiperiode** (juni) waren **minder resistent** tegen chloor dan deze verzameld in de winter. Het verschil bedroeg bijna 29%. Vergelijkbare resultaten werden gevonden bij *D. polymorpha* (Kilgour & Baker, 1994; Jenner et al., 1998). In de winter zijn metabolische snelheden en filtratiesnelheid lager waardoor de blootstelling aan het toxische product lager is. Anderzijds zijn mosselen verzwakt na het paaïen wanneer ze weinig energiereserves hebben (Bayne et al., 1976), waardoor ze gemakkelijker vatbaar zijn voor toxische producten.



Figuur 9: Vergelijking van blootstellingstijd tot 100% mortaliteit van *M. leucophaea*, *D. polymorpha* en *M. edulis* bij verschillende chloorconcentraties.

Als we de drie soorten vergelijken (Fig. 9) is ***M. leucophaea* de meest tolerante soort gevolgd door *M. edulis* en *D. polymorpha*.** Deze verhoogde tolerantie is te wijten aan zijn eurohaliene natuur (Siddall, 1980). Om een effectieve antifouling behandeling te krijgen dient chloorbehandeling dus precies toegepast te worden, afhankelijk van de te bestrijden soort.

5. HOE EFFICIËNT IS ONDERBROKEN CHLORERING OM ADULTE MOSSELFOLING TE BESTRIJDEN? (RAJAGOPAL ET AL., 2003)

TESTCONDITIES

- Mossels geacclimatiseerd bij 20°C en 5 PSU gedurende 2 weken, zodat ze kunnen vasthechten op artificieel substraat
- Grootte:
 - *M. leucophaeata* (20.4 ± 1 mm)
 - *Dreissena polymorpha* (20.1 ± 0.7 mm)
 - *Mytilus edulis* (21.2 ± 1.6 mm)
- Chloorconcentraties: 1.0 – 3.0 mg/l
- **Continue + onderbroken** (4h aan / 4h uit) dosering

RESULTATEN EN DISCUSSIE

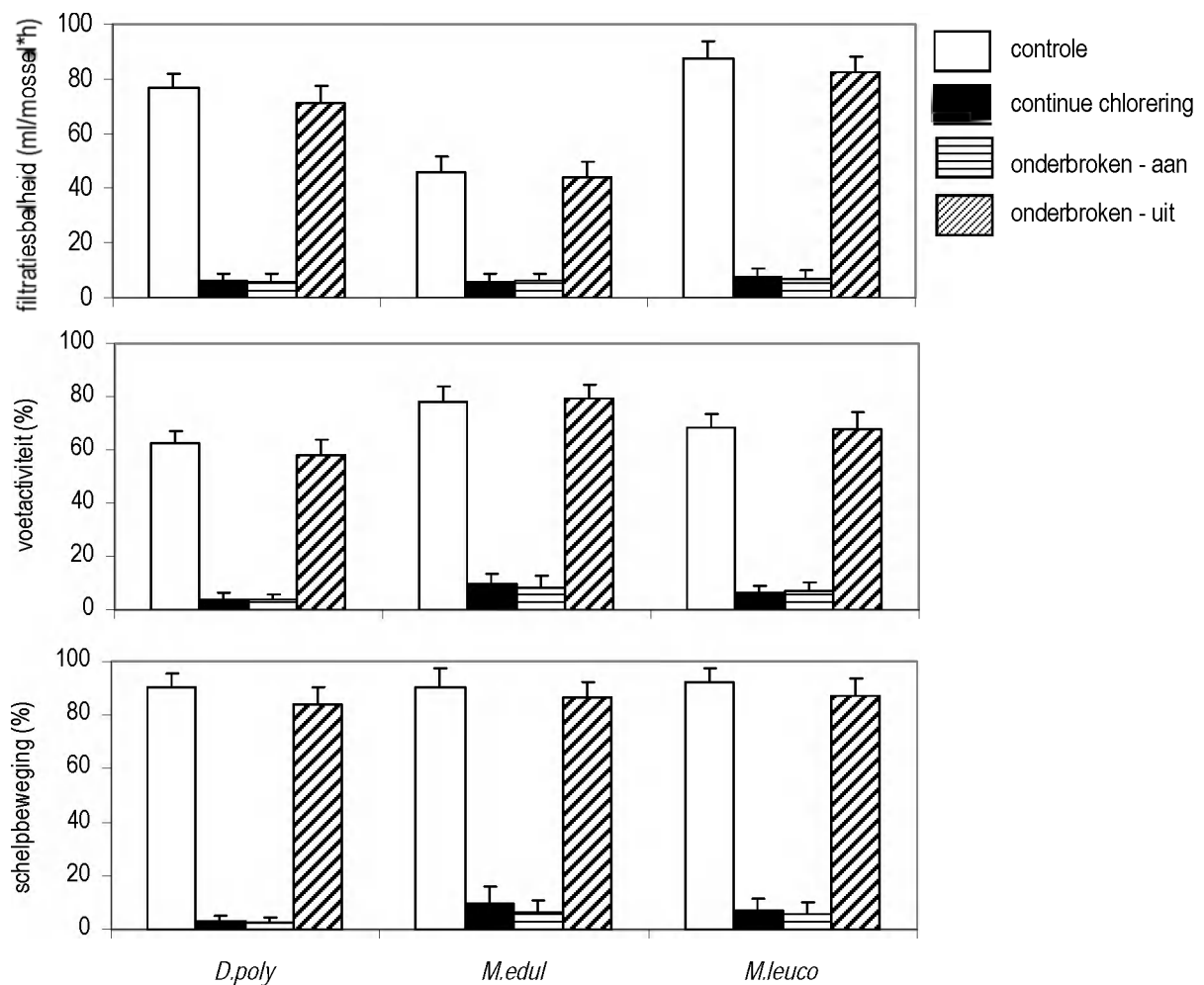
Tabel 1: Aantal uur tot 100% mortaliteit bij continue chlorering aan 1 en 2 mg/l chloor.

	1 mg/l	2 mg/l
<i>M. leucophaeata</i>	1104 h	798 h
<i>D. polymorpha</i>	588 h	444 h
<i>M. edulis</i>	966 h	

Tabel 1 toont aan dat *M. leucophaeata* de meest resistente mosselsoort is. Ook duidelijk wordt dat 1 mg/l significant minder toxisch is dan andere chloorconcentraties. Onderbroken chlorering veroorzaakt geen letale effecten.

Figuur 10 toont aan dat de fysiologische activiteiten sterk afnemen bij continue chlorering aan 1 mg/l, en dit bij alle geteste soorten. Bij onderbroken dosering waren de kleppen gesloten gedurende de chlorering, met bijbehorende lage fysiologische activiteit, en geopend na het stoppen van de dosering. Hieruit kunnen we afleiden dat onderbroken chlorering om de 4h geen enkel effect heeft op de mossel. De 4 uur durende herstelperiode is voldoende lang om de mossel 100% te laten herstellen.

Ongeacht de efficiëntie van continue chlorering wordt onderbroken chlorering nog steeds zeer frequent gebruikt om adulte mosselpopulaties te verwijderen. De meeste industrieën gebruiken 1-4 h chlorering, gevolgd door 1-8 h pauze, afhankelijk van de watertemperatuur en het voortplantingsseizoen van de mosselen (Claudi & Mackie, 1994; Jenner et al., 1998). Echter, **hoewel adulte mosselen van alle 3 de soorten gedood kunnen worden in 588 tot 1104h, hebben vergelijkbare dosissen die onderbroken worden toegepast geen enkel significant effect op de mortaliteit.**

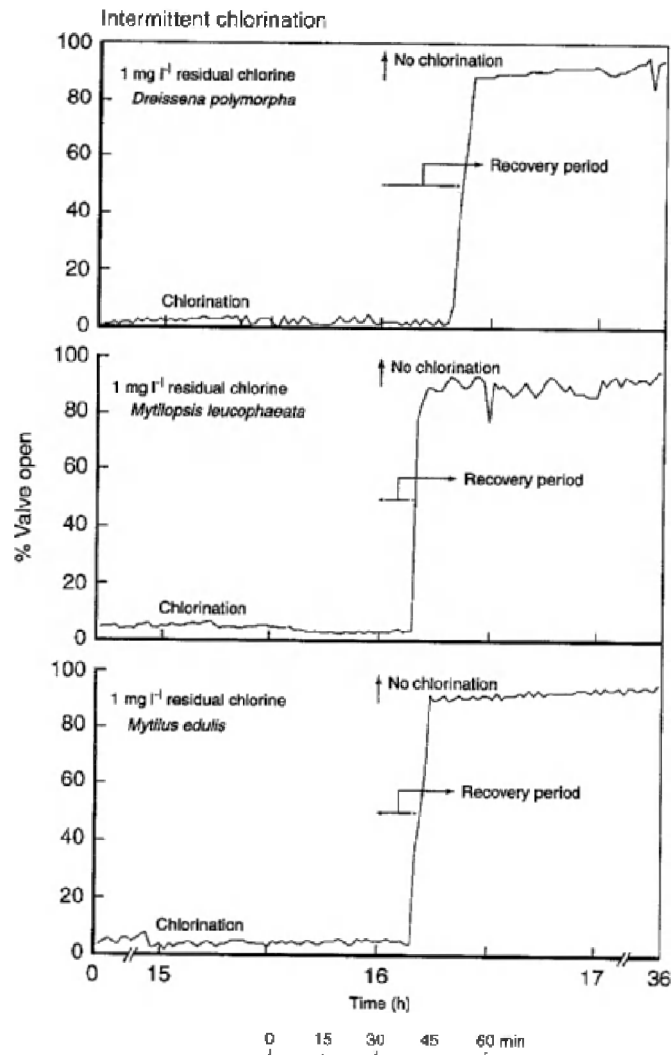


Figuur 10: Vergelijking van fysiologische activiteiten van *M. leucophaea*, *D. polymorpha* en *M. edulis* bij 1 mg/l bij controleomstandigheden, continue chlorering en de aan- en uifase bij onderbroken chlorering.

Literatuurdata betreffende de efficiëntie van onderbroken chlorering zijn tegenstrijdig. Het is echter gerapporteerd dat in een voedselrijke omgeving onderbroken chlorering gedurende een aantal uur per dag of een aantal dagen per maand geen mosselen doodt, zelfs niet bij hogere concentraties (3-5 mg/l), omdat ze hun kleppen sluiten tijdens de behandeling en zich opnieuw actief gaan voeden enkele minuten na het stoppen van de chlorering (Klerks & Fraleigh, 1991; Rajagopal et al., 1996). Regelmatige pauzes in het doseren zorgen ervoor dat de mosselen hun energieverlies kunnen recupereren.

Puls-chlorering® probeert onderbroken kort te doseren (minuten), waarbij de mosselen zeer weinig tijd krijgen om te herstellen (Jenner & Polman, 2002). Deze technologie maakt gebruik van de herstelperiode tussen het stoppen van de chlorering en het volledige herstarten van het voeden door de mossel. Chlorering wordt opnieuw gestart net voor de mossel zich begint te voeden. Op dit moment zijn de kleppen al open, maar neemt de mossel de chloor nog niet waar door de vertraagde reactietijd. Deze toepassing zorgt ervoor dat de mossel uitgeput geraakt, en eventueel nog sneller sterft dan bij continue chlorering.

De duur van deze **herstelperiode** is soortafhankelijk (Fig. 11), en bedraagt **7 minuten** voor *M. leucophaeata*, wat veel minder is dan voor de mariene *M. edulis* en de zoetwater *D. polymorpha*. Daarom moet deze procedure zeer voorzichtig gebruikt worden afhankelijk van de te bestrijden soort.

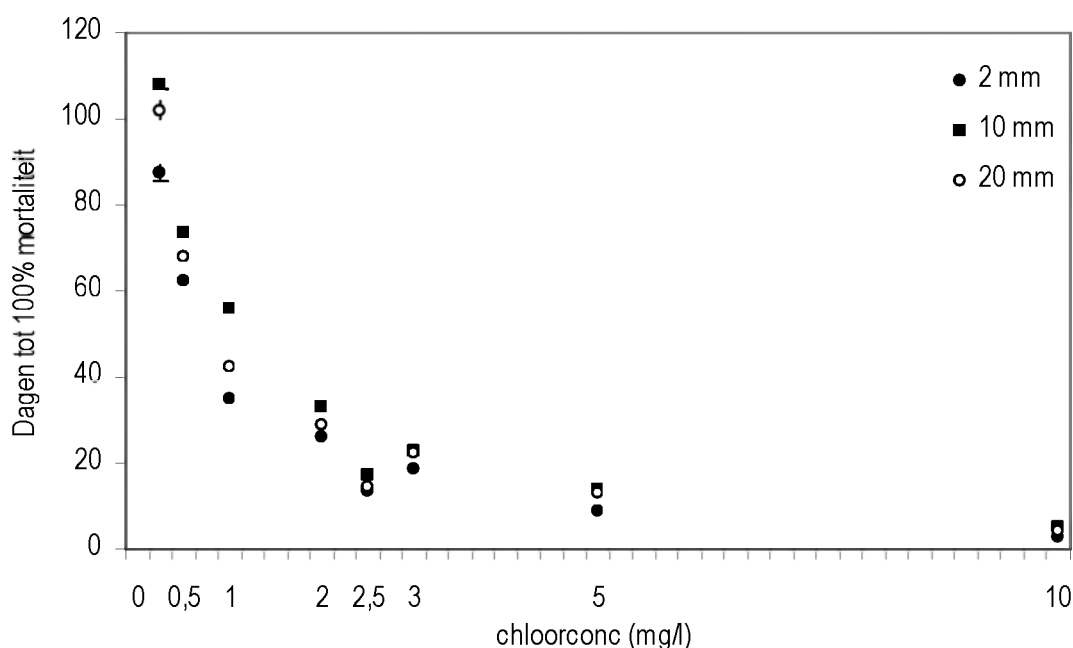


Figuur 11: Mosselmonitor® data die de herstelperiode aantonen tussen het stoppen van de chlorering en het herstarten van de voeding bij *D. polymorpha*, *M. leucophaeata* en *M. edulis* gedurende onderbroken chlorering (Jenner & Polman, 2002).

In 2000 werd puls-chlorering® aangenomen als Best Beschikbare Techniek (BBT) in de biofoulingcontrole in industriële koelwatersystemen (IPPC, 2000). Puls-chlorering® wordt aanzien als een doseringstechniek waarbij een **optimale aangroeibestrijding** wordt verkregen **met een minimale hoeveelheid chloor**. Het chloreren gedurende de herstelperiodes zorgt ervoor dat de mossel dit ervaart als een continue blootstelling, terwijl er veel minder hypochloriet wordt gebruikt. Tests, uitgevoerd tussen 1998 en 2000, resulteerden in een chloorbesparing tot 50% op jaarlijkse basis in vergelijking met de gebruikte regimes in de voorgaande jaren.

EFFECT OP MORTALITEIT

Literatuur toont aan dat **onderbroken chlorering**, zoals momenteel toegepast op BASF Antwerpen NV, geen lethaal effect heeft op bestaande adulte biofouling door *M. leucophaeata*. De mosselen sluiten inderdaad hun kleppen wanneer de dosering plaatsvindt, maar openen ze opnieuw snel na het doseren. De adulte mossel ondervindt weinig effect van deze behandeling (Fig. 10).



Figuur 12: Aantal dagen tot 100% mortaliteit van verschillende grootteklassen van *M. leucophaeata* bij verschillende chloorconcentraties.

Bij **continue dosering** blijkt zelfs een **concentratie van 0.25 mg/l chloor op lange termijn (> 100 dagen) dodelijk voor *M. leucophaeata*** (Fig. 12). Indien een deel van de installatie kan afgesloten worden gedurende een korte tijd zal een concentratie van 10 mg/l 100% mortaliteit veroorzaken binnen 5 dagen.

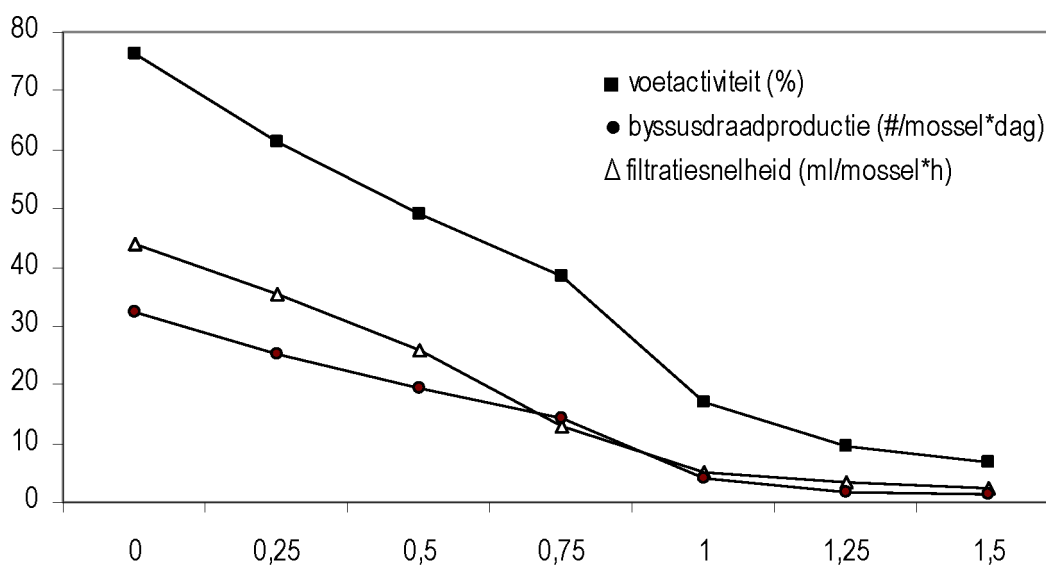
Mosselen zijn tijdens de paaiperiode (zomer) minder resistent tegen chloor dan in de winter. In de winter zijn metabolische snelheden en filtratiesnelheid lager waardoor de blootstelling aan het toxische product lager is. Anderzijds zijn mosselen verzwakt na het paaien in de zomer waardoor ze gemakkelijker vatbaar zijn voor toxische producten.

Opvallend is ook dat *M. leucophaeata* veel resistentier is tegen chlorering dan de gewone mossel *M. edulis* en de zebramossel *D. polymorpha* (Fig. 9). Hiermee dient rekening gehouden te worden bij de bepaling van een optimaal doseringsschema ter bestrijding van biofouling, zowel met chloor als met eventuele andere biociden.

Bestaande doseringsprogramma's dienen specifiek voor de te bestrijden mosselsoort geoptimaliseerd te worden.

EFFECT OP FYSIOLOGISCHE PROCESSEN

De mossel reageert zelfs op heel lage concentraties hypochloriet in het water; een concentratie van 0.1 mg/l doet de schelp al met meer dan 30 % sluiten. Andere fysiologische effecten zijn niet getest op *M. leucophaeata* bij deze lage concentratie. Alle onderzoek toont echter wel het effect aan van concentraties vanaf 0.25 mg/l op de belangrijkste fysiologische processen, zoals filtratiesnelheid, voetactiviteit en byssusproductie. Deze activiteiten worden kritisch beïnvloed bij een range van 0.75 – 1.0 mg/l, al is zelfs bij lagere concentraties een duidelijk negatief effect waarneembaar (Fig. 13).



Figuur 13: Fysiologische activiteit bij gemiddelde grootteklasse van *M. leucophaeata* bij verschillende chloorconcentraties.

Het effect is het grootst bij de kleine mosselen (≤ 2 mm) (Fig. 6). Jonge, kleine mosselen zijn actiever dan oudere en hebben dus hogere metabolische snelheden, waardoor ze sneller reageren op stress dan grotere mosselen.

PRAKTISCHE TOEPASSING BINNEN BASF ANTWERPEN NV

Momenteel wordt zowel op D205 als E1405 2 maal per dag gedurende 30 minuten 12.68 mg/l javel gedoseerd (D. Dekever, pers. mededeling). Literatuur toont aan dat deze methode van doseren weinig effect heeft op de bestaande mosselfouling. Bij continue dosering echter blijkt een concentratie van 0.25 mg/l chloor op lange termijn dodelijk voor *M. leucophaeata*.

	1 uur	aan	12.68 mg/l
=	50 uur	aan	0.25 mg/l
=	24 uur	aan	0.53 mg/l

Puur mathematisch betekent dit een winst van quasi 50 % indien we veronderstellen dat er gedurende 24 uur aan een concentratie van 0.25 mg/l gedoseerd wordt, in plaats van 1 uur aan 12.68 mg/l. Echter, door het verlies in concentratie binnen de installatie dient een hogere concentratie aan het lozingspunt gedoseerd te worden. Het bestaande doseringsregime kan zonder extra kosten omgezet worden in een continue dosering van 0.5 mg/l. Hierbij moet nagegaan worden wat het concentratieverlies is binnen de installatie. Wanneer deze onder de 0.25 mg/l blijft, kan overwogen worden om dit nieuwe regime aan te nemen.

PULS-CHLORERING® ALS MOGELIJKE OPLOSSING?

Puls-chlorering® zorgt ervoor dat de mosselen een quasi continue blootstelling ervaren terwijl er toch minder chloor wordt gebruikt in vergelijking met continue chlorering. Bij puls-chlorering wordt de mossel verplicht om steeds om te schakelen van een anaeroob metabolisme (wanneer de schelp gesloten is) naar een aeroob metabolisme (wanneer de kleppen open zijn) en omgekeerd. Dit leidt tot een fysiologische uitputting waarbij een sneller letaal effect bekomen zal worden dan bij de conventionele continue chlorering.

Puls-chlorering® is uitgeroepen tot Best Beschikbare Techniek in de bestrijding van macrofouling in once-through koelwatersystemen die chloor gebruiken omdat het een optimale antifoulingbehandeling is met een minimaal chloorgebruik. Er is echter **geen optimaal puls-chloreringsregime voor alle watertypes en foulingsoorten** (Jenner et al., 2001). De gevoeligheid van een foulingsoort hangt vnl. af van het type water en de kwaliteit ervan, omdat dit een invloed heeft op de reactie van chloor in het water en de vorming van de chloorhoudende bijproducten (CBPs).

Door het aangepaste doseringsregime is reeds een grote reductie van chloor bekomen. Of puls-chlorering in het geval van BASF Antwerpen NV nog een extra besparing zou kunnen betekenen, dient nagegaan te worden door het testen in het veld met behulp van de KEMA-apparatuur (Jenner & Polman, 2002). Het feit is echter dat door gebruik van deze techniek wel een reductie in milieu-impact wordt bekomen, waardoor minder CBPs geproduceerd worden. Jenner & Polman (2002) hebben een optimaal chloreringsregime bepaald voor ***M. leucophaeata* in brak water van 15 minuten aan en 15 minuten uit** aan een concentratie van **0.6 mg/l Cl₂** waarbij gedoseerd wordt vanaf een temperatuur > 10 °C in het voorjaar tot een temperatuur < 10 °C in het najaar. Er wordt echter sterk benadrukt dat het perfecte doseringsregime zeer afhankelijk is van soort en locatie, waarbij een locatiespecifieke studie op iedere site wordt voorgesteld. Het uitvoeren van een locatiespecifieke studie door KEMA is echter duur, waardoor deze optie pas in een later stadium van strengere milieuwetgeving wordt aangeraden.

HOOFDSTUK 3

OPTIMALE DOSERING OM
NIEUWE FOULING TE VERMIJDEN

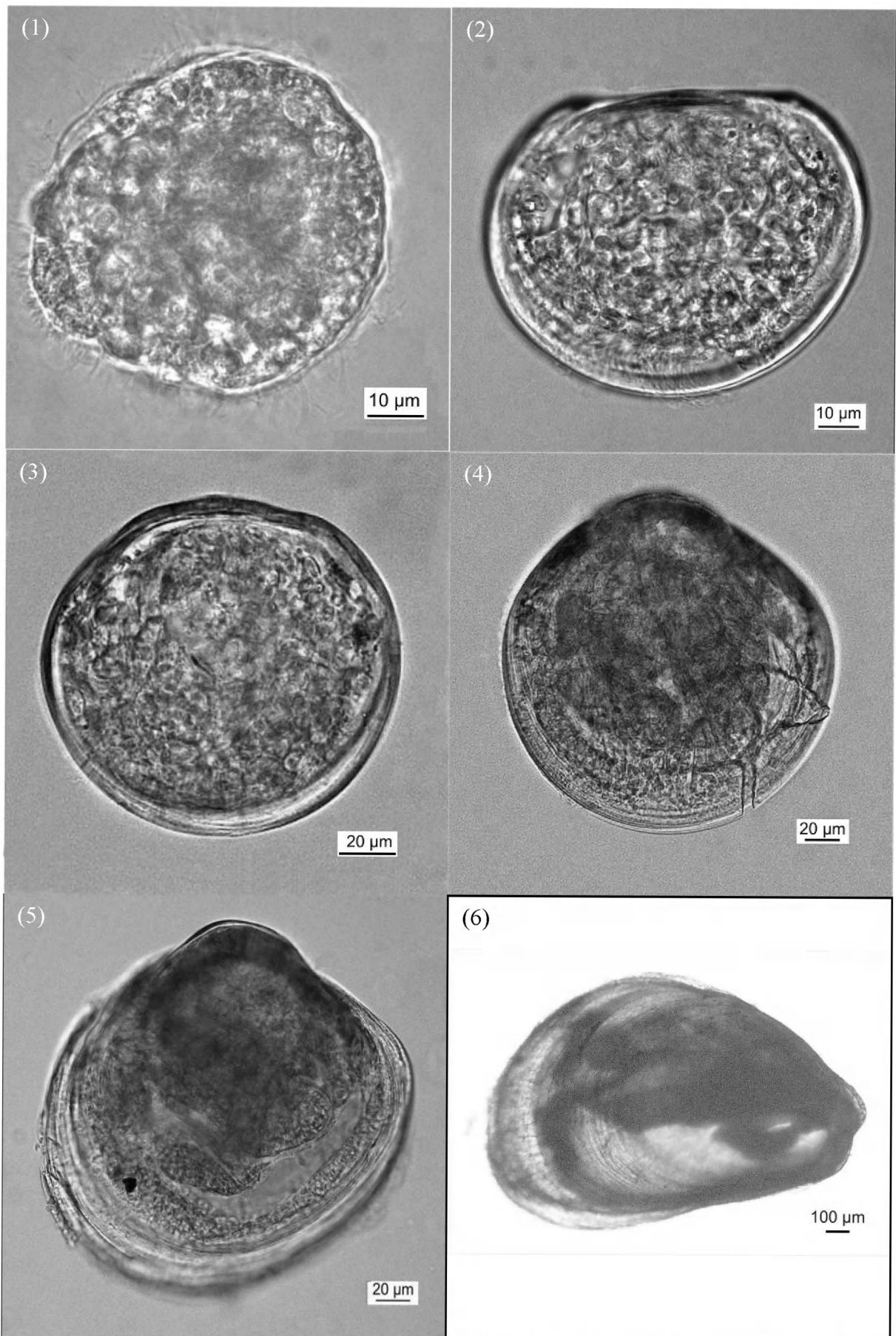
1. WAAROM NIEUWE BIOFOULING VERMIJDEN?

Mosselen worden als zeer schadelijke foulingorganismen beschouwd omdat adulte mosselen zich kunnen isoleren van hun omgeving door hun beschermende kleppen te sluiten en byssusproductie te stoppen, bv. wanneer biociden gebruikt worden. Dit zorgt ervoor dat mosselfouling, eens aanwezig, zeer moeilijk te verwijderen is. Larven echter zijn de meest kwetsbare fase in de levenscyclus van een bivalve (Bayne et al., 1976), waardoor deze fase mogelijk veel kwetsbaarder is dan adulten aan veranderingen in de natuurlijke omgeving en aan biociden.

Mosselen zijn organismen van gescheiden geslacht ⁵. Beide geslachten zijn slechts een beperkte periode van het jaar rijp (broedseizoen). De bevruchting gebeurt extern in de waterkolom en binnen 24 uur na de bevruchting ontstaat een eerste vrijlevend larvaal stadium. Een reeks van larvale stadia wordt doorlopen tot de larve een hardere schelp gaat ontwikkelen en zich gaat vasthechten (Fig. 15). Deze periode, van embryo tot gesetelde pediveliger, kan bij *M. leucophaeata* tussen de zeven en tien weken duren. Onderzoek heeft aangetoond dat de periode van larvale aanwezigheid bij *M. leucophaeata* ieder jaar opvallend gelijkend is, hoewel er grote verschillen in densiteit kunnen optreden (Verween et al., 2005). In alle onderzochte jaren startte het larvale seizoen eind mei – begin juni en duurde ongeveer 5 maanden. Deze strikte timing van larvale aanwezigheid is een eerste indicatie dat biologische kennis een belangrijk instrument is in de bestrijding van biofouling. **Om nieuwe biofouling te vermijden zou een gerichte dosering van biociden tijdens de periode van larvale aanwezigheid even effectief zijn als een continue dosering het ganse jaar door.**

Onderstaande studies hebben 2 hypothesen onderzocht, nl. de kwetsbaarheid van larven en embryo's van *M. leucophaeata* (1) tov veranderingen in de natuurlijke omgeving en (2) bij verschillende concentraties en blootstellingsduur van hypochloriet en perazijnzuur. In een eerste fase is echter getracht de periode van larvale aanwezigheid in de waterkolom te voorspellen. Alle figuren zijn afkomstig uit de originele, Engelstalige publicaties.

⁵ **gescheiden geslacht** = er zijn zowel mannelijke als vrouwelijke individuen



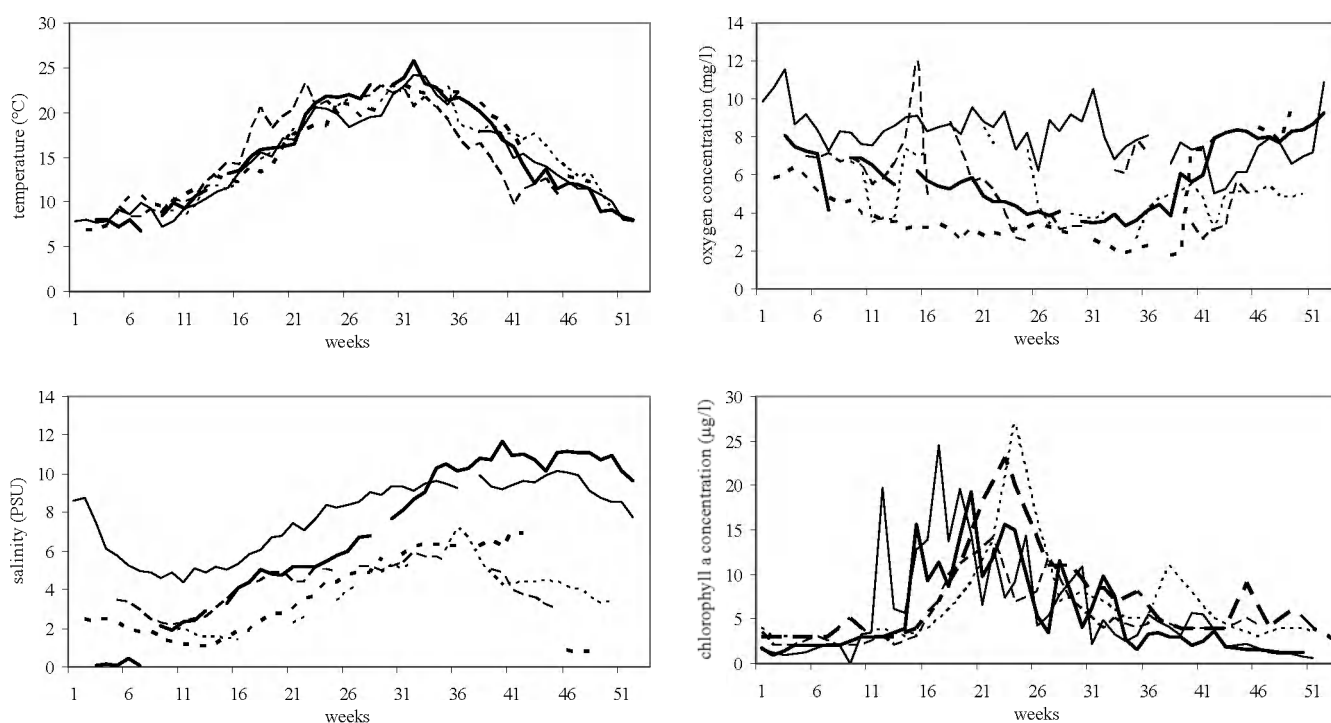
Figuur 14: Larvale stadia van *M. leucophaeata*: (1) trochophora; (2) D-shaped veliger; (3) veliconcha; (4) pediveliger; (5) postveliger; (6) juveniel.

METHODE

De aanwezigheid en densiteit van *M. leucophaeata* werd wekelijks gemonitord op BASF Antwerpen NV gedurende de periode 2000 - 2005. Planktonstalen werden genomen door 50 liter binnenkomend water te zeven over een zeef met maaswijdte 63 μm . In deze studie werd aan/afwezigheid gekozen als doelvariabele aangezien voor biocidegebruik de hoeveelheid te bestrijden larven onbelangrijk is; We willen alle larven bestrijden, ongeacht of er één of één miljoen in het binnenkomende water aanwezig zijn, vanaf het moment dat de eerste binnenkomt totdat de laatste de installatie heeft verlaten. Voor meer gedetailleerde informatie verwijzen we naar Verween et al. (2007a).

Data verzameld tussen 2000 en 2004 werden gebruikt om het model te ontwerpen en te evalueren terwijl data van 2005 aangewend werden om de voorspellende capaciteit van het model te testen.

RESULTATEN EN DISCUSSIE



Figuur 15: Seizoensale variatie door de jaren heen in omgevingsvariabelen in het binnenkomende koelwater van BASF Antwerpen NV (----2000; 2001; - - - 2002; ——— 2003; ——— 2004).

Het binnenkomende water vertoont een duidelijk jaarlijks cyclisch patroon in omgevingsvariabelen (Fig. 15). Temperatuur was laag in de winter en lente en bereikte maxima in de late zomer. Saliniteit vertoonde minimale waarden in de lente en nam toe doorheen het jaar met maximale waarden in de late herfst. In

tegenstelling tot andere jaren bleef de saliniteit stijgen in de winter van 2003 wat een algemene stijging van de saliniteit in 2004 tot gevolg had. Hoewel het algemene patroon hetzelfde bleek, was er een duidelijk verschil tussen de jaren.

Tabel 2: Omgevingsvariabelen van het binnenkomende koelwater op BASF Antwerpen NV in 2000-2004.

	Minimum	Maximum	Gemiddelde
Temperatuur (°C)	6.8	25.9	15.5
Saliniteit (PSU)	0.1	11.7	5.4
Zuurstofconcentratie (mg/l)	0.8	12.0	5.9
Chlorofylconcentratie (µg/l)	0.0	27.0	6.1

Voedselconcentraties vertoonden een typisch fytoplanktonpatroon met hoge waarden in de lente en zeer lage waarden gedurende de winter. Maximale waarden werden bereikt in de zomer. Er werd geen duidelijk seizoenaal patroon gevonden voor zuurstofconcentraties.

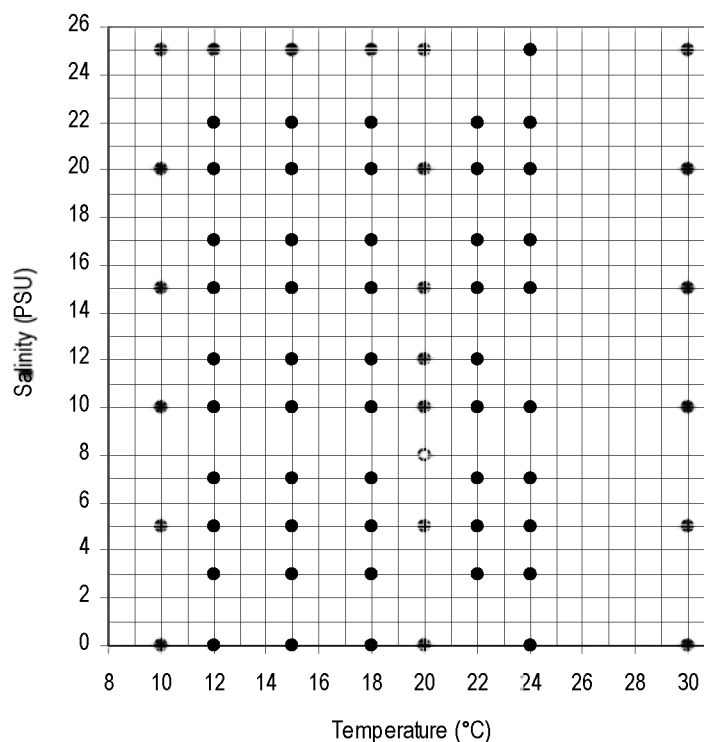
Larven waren vnl. aanwezig binnen een smalle range van temperatuur (18-22.8 °C), saliniteit (5-9 PSU) en voedselconcentratie (4-11 µg/l). Toch trad er een maximaal jaarlijks verschil van 25 dagen (dus bijna 1 maand) op. Dit duidt het nut aan van een geschikt voorspellend model in de controle van biofouling. Een maand onnodig biocidegebruik kan bespaard worden als de larven later arriveren dan normaal. Een betrouwbaar model zal het gebruik van biociden tot het minimum beperken zonder aan efficiëntie in te boeten.

Om de modelleringstechniek te incorporeren in industriële monitoring is het aan te raden om de complexiteit van het model minimaal te houden zonder de voorspellende capaciteit ervan te beperken. Uiteindelijk werd gekozen voor een **eenvoudig maar zeer goed voorspellend model, rekening houdend met temperatuur en het tijdseffect.** Dit model maakt het mogelijk om de larvale aanwezigheid van *M. leucophaea* te voorspellen door enkel de watertemperatuur te meten; een eenvoudig automatisch meetsysteem is voldoende om de periode van gebruik van biociden te bepalen. Zelfs het testen van het ontwikkelde model op de dataset van 2005 gaf een zeer hoge betrouwbaarheid (96 %), ook al was dit een jaar met een lange, warme nazomer waardoor larven tot november in de waterkolom voorkwamen.

METHODE

Vier uur oude embryo's en twee dagen oude larven van *M. leucophaeata* werden gebruikt in statische acute 48h testen. De kwetsbaarheid van de verschillende stadia t.o.v. veranderingen in temperatuur en saliniteit werd nagegaan en de limieten van overleving werden bepaald. Enkel de eerste informatie is in deze studie van belang en zal worden weergegeven. Voor meer gedetailleerde informatie verwijzen we naar Verween et al. (2007b). In het kader van biofoulingcontrole werd aan de hand van deze studie gezocht naar kleine veranderingen in de heersende omgevingsvariabelen die een lethaal effect kunnen hebben op de binnenkomende larven. Dit omdat we, indien (milieu)technisch mogelijk, het rekruteringsucces van *M. leucophaeata* willen beperken door manipulatie van de biologisch relevante omgevingsvariabelen van het binnenkomende koelwater.

De larven werden gekweekt in het laboratorium onder zo natuurlijk mogelijke condities (20°C en 8 PSU). De geteste combinaties temperatuur-saliniteit worden weergegeven in figuur 16.



Figuur 16: Geteste combinaties temperatuur-saliniteit. Witte punt = universele controle (20 °C – 8 PSU).

RESULTATEN EN DISCUSSIE

Er is geen significant effect in mortaliteit gedetecteerd bij **2 dagen oude larven** bij de geteste temperaturen (5-25 °C) en saliniteiten (5-25 PSU). In alle geteste combinaties bedroeg de mortaliteit maximaal $13.7\% \pm 7$, wat een **hoge resistentie** aanduidt **tegen abrupte veranderingen in omgevingsvariabelen** (Fig. 17).

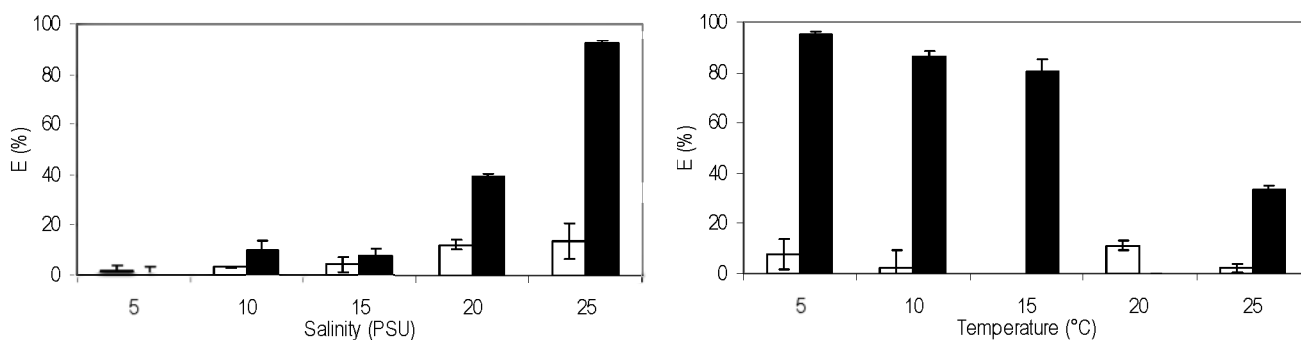


Fig. 17: Mortaliteit $\pm$ SE⁶ van *M. leucophaeata* embryo's (zwart) en larven (wit) bij 20°C met verschillende saliniteiten en 8PSU met verschillende temperaturen.

Bij mariene invertebraten varieert de mate van tolerantie tegen omgevingsvariabelen vaak gedurende de ontwikkeling (Kinne, 1970). Net ontwikkelde larven kunnen al heel resistent zijn, zoals bij *M. leucophaeata*, maar meestal zijn de vroege stadia minder tolerant dan de latere ontwikkelingsstadia of adulten.

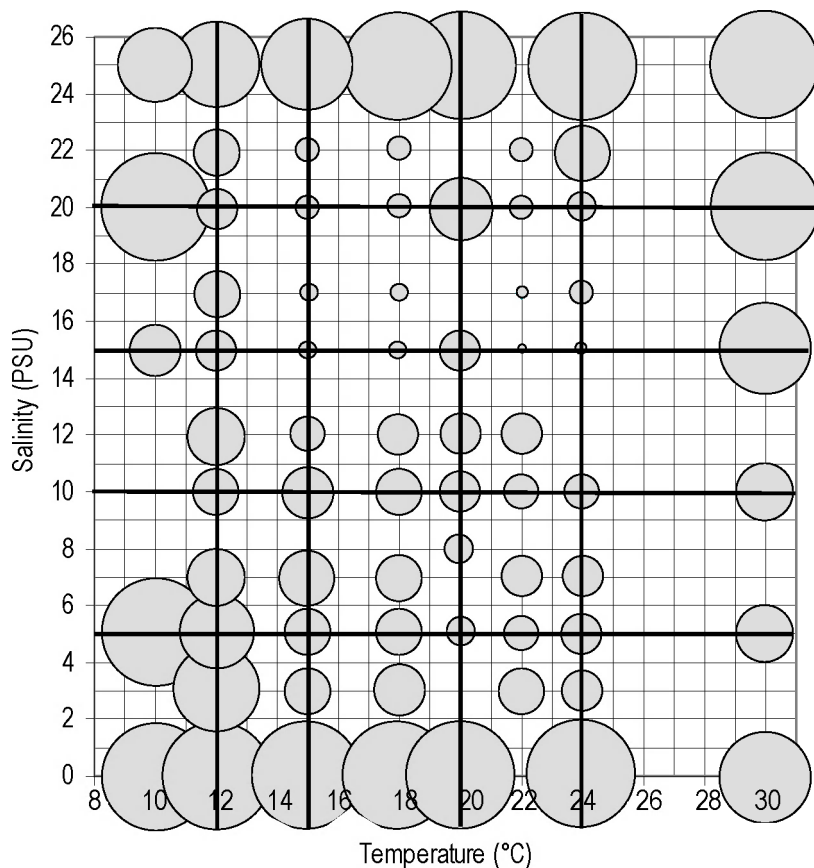
Ook de 4 uur oude embryo's zijn al opvallend resistent tegen plotse veranderingen in temperatuur en saliniteit. Enkel bij zeer lage (10 °C) en zeer hoge (30 °C) temperaturen en saliniteiten (respectievelijk 0 en 25 PSU) is een grote sterfte waargenomen (Fig. 18).

Op zijn oorspronkelijke vindplaats is *M. leucophaeata* vnl. te vinden in warme, meer gematigde waters (Marelli & Gray, 1983), maar in Europa verdraagt hij veel lagere temperaturen: de soort is gevonden in fluctuerende watertemperaturen, gaande van 5°C in Finland (Laine et al., 2006) tot 30 °C in Miami (Siddall, 1980). De experimenten tonen aan dat $22\text{ °C} \pm 2$ de optimale temperatuur is voor embryonale overleving. Dit komt overeen met de fluctuerende heersende zomertemperaturen in Europese wateren.

Qua saliniteit is *M. leucophaeata* een typische euryhalie ⁷ soort met adulten die overleven in saliniteiten tussen 0.1 en 31 PSU. Onze bevindingen tonen echter aan dat de embryo's van *M. leucophaeata* niet zo tolerant zijn, met 22 PSU als bovenste overlevingslimiet.

⁶ SE = Standard Error = standaard fout = de standaardafwijking van het steekproefgemiddelde

⁷ Euryhalien = aangepast aan een brede range van saliniteit



Figuur 18: Mortaliteit (%) van *M. leucophaeata* 4 uur oude embryo's bij de geteste combinaties van temperatuur en saliniteit. Hoe groter de oppervlakte van de cirkel, hoe hoger de mortaliteit.

Hoewel embryo's en larven van *M. leucophaeata* geen beschermende schelp hebben, zijn ze toch al opvallend resistent tegen variatie in temperatuur en saliniteit; **enkel saliniteiten van 0 en 25 PSU, direct na de bevruchting, veroorzaken mortaliteiten, hoog genoeg om het voorkomen van de introductie van *M. leucophaeata* te garanderen.**

De planktonische larvale fase van *M. leucophaeata* is dus veel minder kwetsbaar dan oorspronkelijk aangenomen. Dit onderzoek heeft dan ook duidelijk aangetoond dat het onmogelijk is om een eenvoudige ecologische oplossing te vinden tegen nieuwe biofouling van *M. leucophaeata*; kleine variaties in temperatuur of saliniteit hebben geen effect op de overleving van de binnenkomende larven.

4. TOXICITEIT VAN HYPOCHLORIET IN DE BIOFOULINGCONTROLE VAN *M. LEUCOPHAEATA* EMBRYO'S (VERWEEN ET AL., INGEDIEND)

Controle van mosselfouling in bestaande koelwatersystemen kan bekomen worden door verschillende strategieën. (1) Dit kan gebeuren door het doden van larven voor ze zich vasthechten. (2) Biofouling kan vermeden worden door de vasthechting te verhinderen door het creëren van een nadelige omgeving. (3) Controle kan uitgevoerd worden door het doden of aantasten van de mosselen eens ze zich vastgehecht hebben door periodieke of continue controlemaatregelen (Klerks et al., 1993). Elke strategie richt zich op een andere levensfase. Quasi alle huidige biofoulingcontrole richt zich op het verwijderen van bestaande mosselfouling door het bestrijden van de adulte mosselen reeds aanwezig in het systeem. Aangezien de larvale fase van *M. leucophaeata* kwetsbaarder is dan de adulten wordt de toxiciteit van hypochloriet op deze fase nagegaan. Voor meer gedetailleerde informatie verwijzen we naar Verween et al. (ingediend).

METHODE

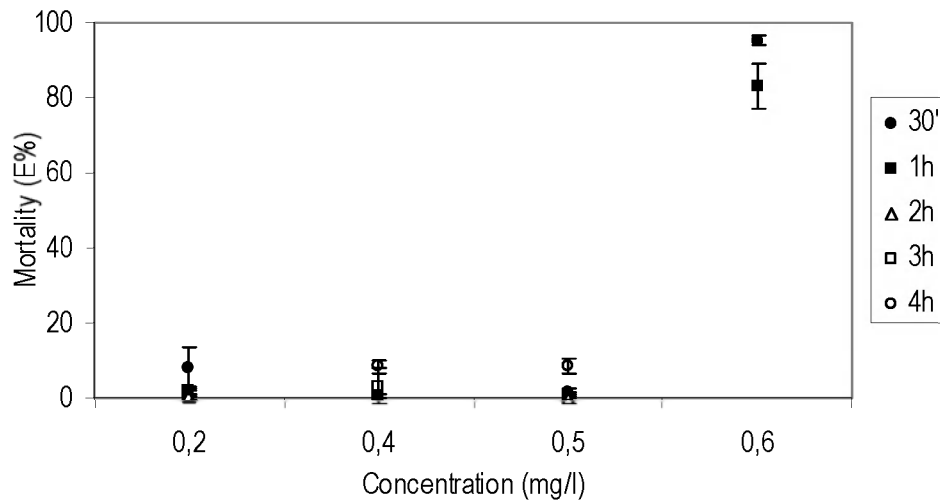
Vier uur na bevruchting werden embryo's getest bij 4 verschillende chloorconcentraties (0.2, 0.4, 0.5 and 0.6 mg/l) bij verschillende blootstellingsduur (Tabel 3). De chloor testoplossing werd bereid uit natriumhypochloriet en brakwater. Testoplossingen werden bereid op de dag van het experiment en bewaard in een volumetrische fles (Rajagopal et al., 2002a). Als universele controle werden embryo's blootgesteld aan artificieel water met dezelfde eigenschappen als waarbij bevruchting gebeurde en die heersen in het veld (20 °C en 8 PSU) wanneer de eerste larven worden waargenomen in de waterkolom (Verween et al., 2005).

Tabel 3: Geteste hypochlorietdosissen.

Blootstellingsduur	0.2 mg/l	0.4 mg/l	0.5 mg/l	0.6 mg/l
30' ± 15'	x		x	x
1 h ± 15'	x	x	x	x
2 h ± 30'	x		x	
3 h ± 30'	x	x	x	
4 h ± 30'	x	x	x	

Direct na de testen werden alle embryo's geteld d.m.v. een binoculair microscoop. Een onderscheid tussen levende en dode embryo's werd gemaakt door de aan- of afwezigheid van ciliaire beweging, zowel in de schelp als op een uitgestrekt velum (ASTM, 1999).

RESULTATEN EN DISCUSSIE



Figuur 19: Aangepaste mortaliteiten (%) $\pm$ SE van 4 uur oude *Mytilopsis leucophaeata* embryo's bij verschillende concentraties en blootstellingsduur.

Aangepaste mortaliteit bij *M. leucophaeata* 4h oude embryo's was zeer laag bij chloorgehaltenes 0.2 – 0.5 mg/l (max $8 \pm 2.1\%$), vrij onafhankelijk van de blootstellingsduur. Een **veel hogere mortaliteit werd gedetecteerd bij 0.6 mg/l**, met gemiddelde waarden $87.9\% \pm 4.5$ (Fig. 19). Deze hogere concentratie werd enkel getest bij korte blootstellingen, nl. 30 minuten en 1 uur.

Chlorering is universeel geaccepteerd als een effectief biocide door zijn brede werking, gemakkelijke beschikbaarheid en eenvoudig gebruik (Bidwell et al., 1999). Chlorering wordt als **Best Beschikbare Techniek (BBT)** in industriële koelwatersystemen beschouwd met als succesvolle doseringsregimes **minstens 0.2 mg/l** vrije oxidanten in het systeem (IPPC, 2000). Deze experimenten hebben echter aangetoond dat *M. leucophaeata* embryo's slechts een lage mortaliteit vertonen bij deze concentratie. Dit duidt aan dat het gebruik van een dosering aan 0.2 mg/l om bestaande mossselfouling te bestrijden onvoldoende zal zijn om nieuwe fouling te vermijden.

Het biofoulingprobleem van *M. leucophaeata* zal dan ook nooit volledig opgelost worden met de BBT-richtlijnen. Een concentratie van 0.6 mg/l was wel lethaal voor de meeste embryo's, zelfs bij zeer korte blootstelling. Aangezien larven het systeem continu binnenkomen gedurende een vrij vaste periode in het jaar zou er op dat moment een hogere concentratie dan deze aangeraden in het BBT-document gebruikt moeten worden.

5. BESLUIT

PERIODE VAN BESTRIJDING

Om nieuwe biofouling door *M. leucophaeata* tegen te gaan, is het belangrijk om de mossel te bestrijden terwijl hij zich nog in zijn larvale fase bevindt. Een gerichte dosering van biociden gedurende de periode van larvale aanwezigheid zal even effectief zijn om nieuwe mosselfouling te voorkomen als een continue dosering het ganse jaar door. Larven zijn op de site van BASF Antwerpen NV vnl. aanwezig binnen een smalle range van temperatuur (18-22.8 °C), saliniteit (5-9 PSU) en voedselconcentratie (4-11 µg/l). Hoewel grote verschillen in larvale densiteiten worden gedetecteerd tussen maanden en jaren, is de periode van larvale aanwezigheid zeer gelijkaardig. Toch treedt er een maximaal jaarlijks verschil van quasi 1 maand op. Dit duidt het nut aan van een geschikt voorspellend model in de controle van biofouling. Een maand onnodig biocidegebruik kan bespaard worden als de larven later arriveren dan normaal. Anderzijds kan op deze manier ook vermeden worden dat er te laat begonnen of te snel gestopt wordt met doseren. Een betrouwbaar model zal het gebruik van biociden tot het minimum beperken zonder aan efficiëntie in te boeten.

In het bestrijden van deze nieuwe fouling blijkt het vroeg waarschuwingssysteem een handig werkinstrument. Zonder een arbeidsintensieve monitoring kan met hoog voorspellingssucces de aanwezigheid van larven in het koelwatersysteem voorspeld worden, zodat de dosering van biociden optimaal afgesteld kan worden op de larvale aanwezigheid in de waterkolom. Het vroeg waarschuwingssysteem brengt vnl. **temperatuur** in rekening, de belangrijkste factor in het op gang brengen van het vrijkomen van de gameten ⁸, waarna bevruchting plaats vindt in de waterkolom.

Momenteel duidt het waarschuwingssysteem de periode **mei – september/oktober** aan als bestrijdingsperiode. Precieze start- en einddata zijn **jaarafhankelijk** en kunnen geraadpleegd worden in het model, zoals nu gebruikt op BASF Antwerpen NV.

REGIME VAN BESTRIJDING

Het IPPC (2000) duidt aan dat een continue dosering van **minstens 0.2 mg/l** vrije oxidanten in het systeem als **Best Beschikbare Techniek (BBT)** beschouwd wordt in industriële koelwatersystemen. Dit betreft echter de bestrijding van adulte mosselen in het systeem, zoals beschreven in Hoofdstuk 2. Experimenten hebben aangetoond dat *M. leucophaeata* embryo's slechts een lage mortaliteit vertonen bij deze concentratie. Om de larvale fase van *M. leucophaeata* te doden zijn hogere concentraties nodig van **minimaal 0.6 mg/l**. Deze concentratie is zelfs al bij korte blootstelling (30 minuten) letaal. Door de continue aanwezigheid van larven in

⁸ **gameten** = zaadcellen en eicellen

de waterkolom zal echter gedurende deze periode **continu gedoseerd** moeten worden. Anders zullen slechts tijdens de doseringsperiode de aanwezige larven gedood worden, terwijl deze die binnenkomen tussen de doseringen door, zich ongehinderd kunnen vasthechten. De hypothese rijst dat deze pas gesettelde larven nog steeds kwetsbaar zullen zijn wanneer een nieuwe dosering volgt, doch deze hypothese is niet wetenschappelijk getest.

Deze studie duidt aan dat het gebruik van een **continue dosering aan 0.2 mg/l om bestaande mosselfouling te bestrijden, zoals beschreven door IPPC (2000) onvoldoende zal zijn om nieuwe fouling door *M. leucophaeata* te vermijden.**

CONCLUSIE

OPTIMALE GECOMBINEERDE DOSERINGSPROGRAMMA

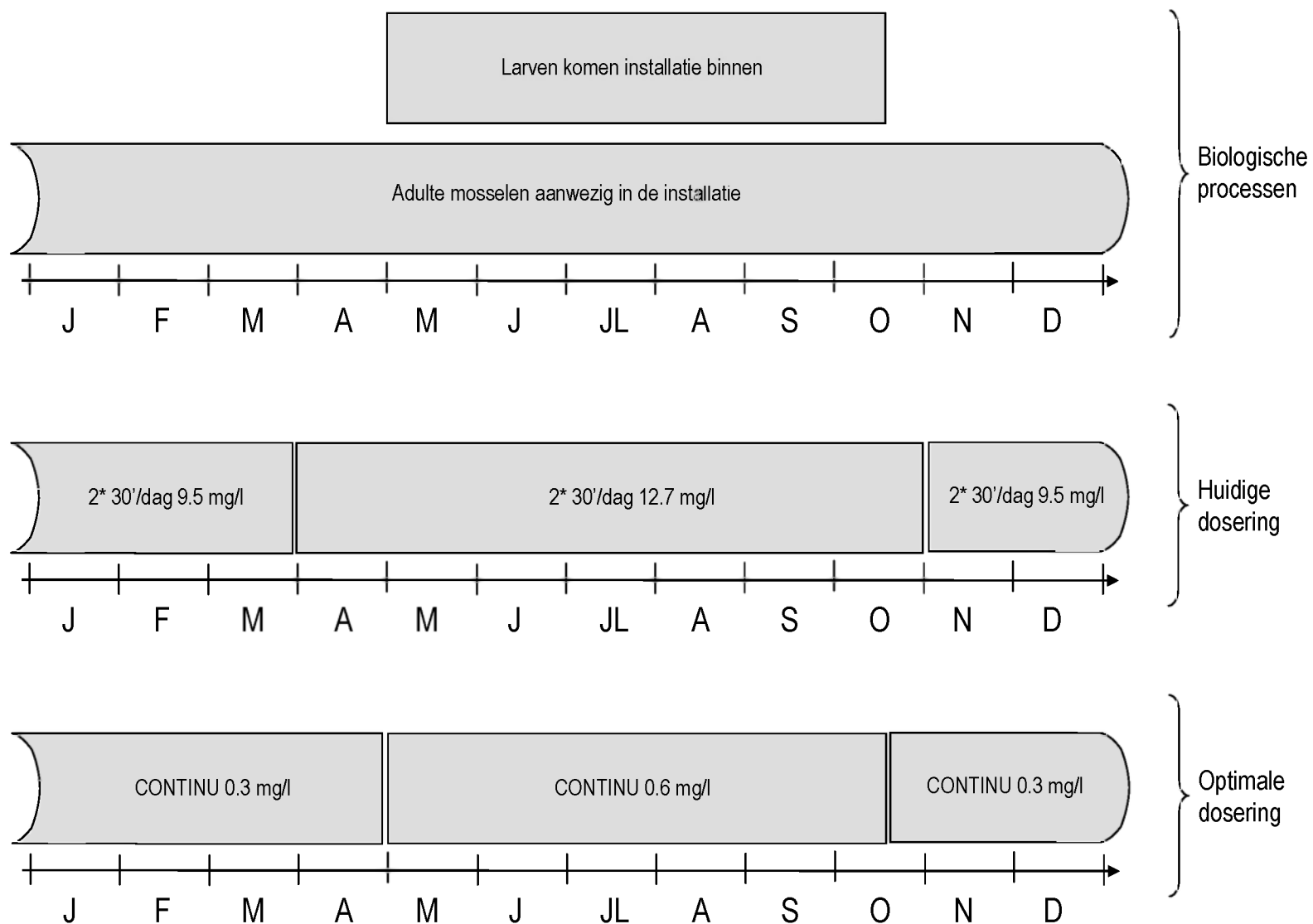


Fig. 20: Grafische weergaven van de biologische processen van *M. leucophaeata* en het huidige en optimale doseringsregime op BASF Antwerpen NV.

Momenteel wordt op BASF Antwerpen NV in de zomer (april tot oktober) **tweemaal per dag gedurende 30 minuten 12.68 mg/l HOCl** gedoseerd. Literatuuronderzoek toont aan dat deze methode weinig effectief is tegen bestaande mosselfouling door *M. leucophaeata*. De praktijk leert ons echter dat a.d.h.v. deze doseringsfrequentie mosselfouling op de site niet toeneemt en dus onder controle wordt gehouden (A. Ooms, pers. mededeling). Buiten deze 'zomerperiode' wordt hetzelfde doseringsregime aangehouden waarbij tweemaal per dag gedurende 30 minuten wordt gedoseerd, maar aan een iets lagere concentratie van **9.5 mg/l HOCl**. Fig. 20 toont echter aan dat gedurende mei – september larven continu de installatie binnenkomen. Bij een dosering van tweemaal 30 minuten per 24 uur zal slechts 4% van de larven bij het binnenkomen direct gedood worden. De vraag blijft natuurlijk hoe kwetsbaar een pas vastgehechte larve nog is, 20 uur na zijn vasthechting. Dit is de maximale tijdsduur tussen twee doseringsperiodes. Hierover zijn geen experimentele bewijzen, maar de kans is reëel dat deze vroege vasthechters nog niet voldoende beschermd zijn om een concentratie van minimaal 9.5 mg/l te weerstaan.

De meest optimale dosering om zowel bestaande mosselfouling te bestrijden als nieuwe mosselfouling door *M. leucophaeata* te vermijden is een continue dosering aan lage dosissen, zoals aangeduid in figuur 20. Literatuuronderzoek toont aan dat een **continue dosering van 0.25 mg/l** gedurende meer dan 100 dagen lethaal is voor adulte *M. leucophaeata*. Een tijdelijke verhoging van deze concentratie tot **0.6 mg/l gedurende de periode van larvale aanwezigheid** in de installatie vermijdt nieuwe mosselfouling. Op deze manier wordt het probleem van mosselfouling door *M. leucophaeata* gradueel opgelost tot alle adulten verwijderd zijn uit de installatie. In theorie zal een dosering van 0.6 mg/l HOCl tijdens de zomerperiode dan voldoende zijn om het probleem te vermijden.

In deze theoretisch ideale situatie wordt echter geen rekening gehouden met volgende praktische overwegingen: (1) de organische vracht van het water absorbeert een deel van de HOCl, waardoor de actieve concentratie afneemt met de tijd en (2) deze stelling houdt enkel rekening met *M. leucophaeata* fouling.

(1) ORGANISCHE VRACHT VAN HET NATUURLIJKE WATER

Een deel van het chloor wordt direct geabsorbeerd door bestanddelen in het natuurlijke water (zie Inleiding). De mogelijke chemische reacties van chloor in water zijn zeer gevarieerd en complex afhankelijk van de chloordosis en de eigenschappen van het ontvangende water (Jolley & Carpenter, 1983). Dit heeft tot praktisch gevolg dat de concentratie aan de uitstroom lager zal zijn dan aan het lozingspunt. Omdat mosselen in de ganse installatie een minimale concentratie van 0.25 mg/l moeten ondervinden, zal een hogere concentratie gedoseerd moeten worden, afhankelijk van de chemie van het water. Belangrijk is ook dat de restconcentratie aan chloor aan de uitstroom dient gemeten te worden. De huidige apparatuur laat niet toe om

zo'n lage concentraties te detecteren. Dit heeft tot gevolg dat een mogelijke lekkage of verlies aan chloor niet gemeten kan worden, wat een accurate opvolging extreem moeilijk maakt.

(2) MEER DAN FOULING DOOR *M. LEUCOPHAEATA*

Alhoewel mosselen de meest problematische foulingorganismen zijn, komen in de koelwaterinstallatie van BASF Antwerpen NV nog andere foulers voor. De belangrijkste is de Hydrozoa *Cordylophora caspia* (zie bijlage 1), die zich massaal kan vasthechten in de installatie. Dit organisme heeft echter geen beschermingsmechanisme zoals de mossel en is vrij eenvoudig te beperken. Opnieuw werd aangetoond dat een onderbroken chlorering het probleem niet volledig kan oplossen; de beschermende perisarc laat toe dat het organisme na een periodieke chlorering kan regenereren. Ook hier is een continue chlorering de enige manier om het probleem volledig te verwijderen. De vraag is natuurlijk of dit opportuun is in deze context.

Momenteel komt de bivalve *Rangia cuneata* voor in grote aantallen in de installatie (Verween et al., 2006). Dit probleem kan in de toekomst nog toenemen. In tegenstelling tot mosselen en Hydrozoa, gaat deze soort zich niet vasthechten, maar komt ze voor in het zand en slib aanwezig in de installatie. Geen studies naar de effectiviteit van chloor in de bestrijding van deze soort zijn al uitgevoerd.

Het voorgestelde lozingsregime is soortafhankelijk en enkel bepaald voor biofouling door de brakwatermossel *M. leucophaeata*. Er is niet nagegaan of dit doseringsregime volstaat om alle biofouling in de koelwaterinstallatie van BASF Antwerpen NV te bestrijden.

REFERENTIES

- ABARNOU, A, MIOSSEC, L (1992) Chlorinated waters discharged to the marine environment chemistry and environmental impact. An overview. *Sci Total Environ* 126: 173-197.
- ACKERMAN, JD, SIM, B, NICHOLS, SJ, CLAUDI, R (1994) A review of the early life history of the zebra mussel (*Dreissena polymorpha*): Comparisons with marine bivalves. *Can J Zool* 72: 1169-1179.
- ALLONIER, A-S, KHALANSKI, M, CAMEL, V, BERMOND, A (1999) Characterization of chlorination by-products in cooling effluents of coastal nuclear power stations. *Mar Poll Bull* 12: 1232-1241.
- ASTM (1999) Standard guide for conducting static acute toxicity tests starting with embryos of four species of saltwater molluscs. *ASTM E 724-98*: 1-21.
- BAYNE, BL, THOMPSON, RJ, WIDDOWS, J (1976) Physiology I. In: Bayne, BL (Ed) *Marine mussels: their ecology and physiology*, Cambridge Scientific Press, UK: 121-206.
- BIDWELL JR, CHERRY DS, FARRIS JL, PETRILLE JC, LYONS LA (1999) Effects of intermittent halogenation on settlement, survival and growth of the zebra mussel, *Dreissena polymorpha*. *Hydrobiologia* 394:53-62.
- BREF (2000) Reference document on the application of the best available techniques to industrial cooling systems. European IPPC Bureau, European Commission, Sevilla (I – XIII): 312 pp.
- CLAUDI, R, MACKIE, GL (1994) Practical manual for zebra mussel monitoring and control. Lewis Publishers, London, UK: 227 pp.
- IPPC (2000) European Commission: Reference Document on the application of Best Available Techniques to Industrial Cooling Systems: 337 pp.
- JENNER, HA, JANSSEN-MOMMEN, JPM (1993) Monitoring and control of *Dreissena polymorpha* and other macrofouling bivalves in the Netherlands. In: Nalepa TF, Schloesser DW (Eds) *Zebra Mussels: biology, impacts and control*, CRC, Florida, USA: 537 - 554.
- JENNER, HA, POLMAN, HJG (2002) Pulse-chlorination®, the Best Available Technique in macrofouling mitigation using chlorine. *PowerPlant Chemistry* 4 (2): 93-97.
- JENNER, HA, POLMAN, HJG, VAN WIJCK, R (2001) Four years experience with a new chlorine dosing regime against microfouling: 7 pp.
- JENNER, HA, TAYLOR, CJL, VAN DONK, M, KHALANSKI, M (1997) Chlorination by-products in chlorinated cooling water of some European coastal power stations. *Mar Environ Res* 43: 279-293.
- JENNER, HA, WHITEHOUSE, JW, TAYLOR, CJL, KHALANSKI M (1998) Cooling water management in European power stations: biology and control. *Hydroecol App* 1-2: 225 pp.
- JENSEN, AC (1982) Sensitivity of *Mytilus edulis* L. to chlorination. PhD thesis, University of South-Hampton, England: 127 p.
- JOLLEY, RL, CARPENTER, JH (1983) Review of the Chemistry and Environmental Fate of Reactive Oxidant Species in Chlorinated Water. *Water Chlorination: Environmental Impact and Health Effects* 4(1): Chemistry and Water Treatment, Ann Arbor Science, Ann Arbor, MI: 3-47.

- KHALANSKI, M, BORDET, F (1980) Effects of chlorination on marine mussels. In: Water Chlorination: Chemistry, Environmental Impact and Health effects (RL Jolly, WA Brungs & RB Cumming, eds.), Ann Arbor, Michigan: 557-567.
- KHALANSKI, M, BORDET, F (1981) Impact de la chlorination sur la qualité de l'eau et le plancton. Bilan des études réalisées sur le site de Gravelines de 1979 à 1983. Report EDF DER HE/31-85.09.
- KILGOUR, BW, BAKER, MA (1994) Effects of season, stock and laboratory protocols on survival of zebra mussels (*Dreissena polymorpha*) in bioassays. Arch Environ Contam Toxicol 27: 29-35.
- KINNE, O (1970) Temperature-invertebrates. In: Kinne, O (Ed) Marine Ecology I, Wiley-Interscience, London, UK: 405-514.
- KLERKS PL, FRALEIGH PC, STEVENSON RC (1993) Zebra Mussels: biology, impacts and control. Florida, USA: CRC. Controlling zebra mussel (*Dreissena polymorpha*) veligers with three oxidizing chemicals: chlorine, permanganate and peroxide + iron; p. 621-641.
- KLERKS, PL, FRALEIGH, PC (1991) Controlling adult zebra mussels with oxidants. J Am Water Works Assoc 83: 92-100.
- LAINE, AO, MATTILA, J, LEHIKONEN, A (2006) First record of the brackish water dreissenid bivalve *Mytilopsis leucophaeata* in the northern Baltic Sea. Aquat Invasions 1: 38-41.
- LEWIS, BG (1966) Chlorination and mussel control: The chemistry of chlorinated seawater. Central Electricity Research Laboratories, Leatherhead, Surrey, report RD/L/N 106/66: 1-6.
- LEWIS, BG (1985) Mussel control and chlorination. Central Electricity Research Laboratories, Leatherhead, Surrey, report n° TPRD/L/2810/R85: 1-33.
- MARELLI, DC, GRAY, S (1983) Conchological redescrptions of *Mytilopsis sallei* and *Mytilopsis leucophaeata* of the brackish Western Atlantic (Bivalvia: Dreissenidae). Veliger 25: 185-193.
- MATTICE, JS, ZITTEL, HE (1976) Site-specific evaluation of power plant chlorination. J Water Poll Control Fed 31: 2783-2791.
- OPRESKO, DM (1980) Review of open literature on effects of chlorine on aquatic organisms. Electric Power Research Institute, Palo Alto, California, report EPRI EA-1491: 1-29.
- RAHN, O (1943) The problem of the logarithmic order of death in bacteria. Biodynamica 4: 81-130.
- RAJAGOPAL, S, NAIR, KVK, VAN DER VELDE, G, JENNER, HA (1996) Chlorination and mussel control in the cooling conduits of a tropical coastal power station. Mar Environ Res 41: 201-220.
- RAJAGOPAL, S, VAN DER GAAG, M, VAN DER VELDE, G, JENNER, HA (2002a) Control of brackish water fouling mussel, *Mytilopsis leucophaeata*, with sodium hypochlorite. Arch Environ Contam Toxicol 43: 296-300.
- RAJAGOPAL, S, VAN DER VELDE, G, JENNER, HA (1994) Aangroeibestrijding van de brakwatermossel *Mytilopsis leucophaeata* bij de kerncentrales Hemweg en Velsen. Deel 2: thermische bestrijding en chlorering. KEMA-rapport: 45 pp.
- RAJAGOPAL, S, VAN DER VELDE, G, JENNER, HA (1997) Shell valve movement response of dark false mussel, *Mytilopsis leucophaeata*, to chlorination. Water Res 31: 3187-3190.

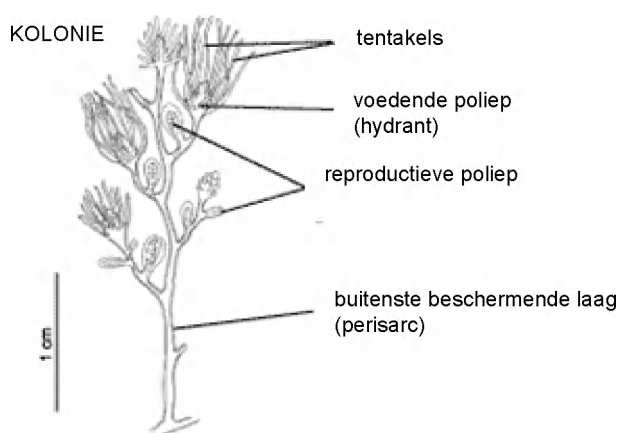
- RAJAGOPAL, S, VAN DER VELDE, G, JENNER, HA (2002b) Effects of low-level chlorination on zebra mussel, *Dreissena polymorpha*. Water Res 36: 3029-3034.
- RAJAGOPAL, S, VAN DER VELDE, G, VAN DER GAAG, M, JENNER, HA (2003) How efficient is intermittent chlorination to control adult mussel fouling in cooling water systems? Water Res 37 (2): 329-338.
- SIDDALL, SE (1980) Early development of *Mytilopsis leucophaeata* (Bivalvia, Dreissenacea). Veliger 22: 378-379.
- TAYLOR, CJ (2006) The effects of biological fouling control at coastal and estuarine power stations. Mar Poll Bull 53: 30-48.
- VERWEEN, A , KERCKHOF, F, VINCX, M, DEGRAER, S (2006). First European record of the invasive brackish water clam *Rangia cuneata* (G.B. Sowerby I, 1831) (Mollusca: Bivalvia). Aquatic Invasions 1(4): 198-203
- VERWEEN, A, HENDRICKX, F, VINCX, M, DEGRAER S (2007a) Larval presence prediction through logistic regression: an early warning system against *Mytilopsis leucophaeata* biofouling. Biofouling 23 (1): 25-35.
- VERWEEN, A, VINCX, M, DEGRAER S (2007b) The effect of temperature and salinity on the survival of *Mytilopsis leucophaeata* larvae (Mollusca, Bivalvia): The search for environmental limits. J Exp Mar Biol Ecol 348: 111-120.
- VERWEEN, A, VINCX, M, DEGRAER, S (IN PRESS) *Mytilopsis leucophaeata*: the brackish water equivalent of *Dreissena polymorpha*? A review. In: Van der Velde, G, Rajagopal, S, Bij de Vaate, A (Eds) The Zebra Mussel in Europe. Backhuys Publishers, The Netherlands.
- VERWEEN, A, VINCX, M, MEES, J, DEGRAER S (2005) Seasonal variability of *Mytilopsis leucophaeata* larvae in the harbour of Antwerp: implications for ecologically and economically sound biofouling control. Belg J Zool 135 (1): 91-93.
- VERWEEN, A, VINCX, M, DEGRAER, S (SUBMITTED) Comparative toxicity of chlorine and peracetic acid in the biofouling control of *Mytilopsis leucophaeata* and *Dreissena polymorpha* embryos (Mollusca, Bivalvia). Biofouling.
- WHITE, WR (1966) Effect of low-level chlorination on mussels at Poole power station. Report n° RD/L/N 17/66, Central Electricity Research Laboratories, Leatherhead, UK: 5 pp.

BIJLAGEN

INLEIDING

De Hydrozoa of hydroïdpoliepen zijn een van de eerste soorten die ondergedompelde oppervlakten koloniseren. Door hun kleine afmetingen en plantachtige voorkomen worden ze vaak voor planten aanzien. Veel aangroei op stenen, schelpen en palen wordt vaak als wier afgedaan, maar bestaat grotendeels uit Hydrozoa. Hoewel het zachte foulers zijn die gemakkelijk te verwijderen zijn in vergelijking met de harde skeletgroeiers, kunnen ze toch voldoende fouling veroorzaken om wateropname te hinderen.

Kolonievormende hydroïden bestaan uit stolonen ('stammen') met verschillende zijtakken (Fig. 1). De meeste kolonies zijn 5 tot 15 cm groot, maar de verschillende poliepen zijn zeer klein. De stam en zijtakken zijn omgeven door een chitineuze laag, de **perisarc**, omgeven door levend weefsel, de **coenosarc** genoemd. De meeste Hydrozoa vertonen dimorfisme: minstens 2 verschillende types van poliepen bestaan. De meest voorkomende poliep is de voedende poliep of **hydrant of gastrozoïde** met tentakels. De **gonozoïde** is de reproductieve poliep, die instaat voor de voortplanting.



Figuur 1: Bouw van een kolonievormende Hydrozoa.

De koloniale hydroïde *Cordylophora caspia* (Pallas) (Fig. 2) is afkomstig van de Ponto-Caspische regio, maar vertoont nu een wereldwijde verspreiding door ballastwater (Roch, 1924; Arndt, 1984). *C. caspia* is het meest algemeen in estuaria, lagunes en kustwateren (Arndt, 1989). Goed ontwikkelde koloniën worden gevonden bij saliniteiten tussen 2 en 12 PSU (Practical Salinity Units) met relatief constante omgevingscondities en een vrij beperkte getijdenwerking, maar de soort tolereert een brede saliniteit tussen 0-30 PSU. Groei gebeurt snel via asexuele budding en is het grootst gedurende de lente en zomer (Roos, 1979; Jormalainen et al., 1994). Gedurende slechte condities en lage temperaturen overleeft *Cordylophora* via bolvormige uitstulpingen van het coenosarc die binnen de perisarc gehouden worden en regenereren onder betere condities (Roos, 1979).

Cordylophora koloniseert innamepijpen en koelwatersystemen in Europa en de Verenigde Staten (Jenner and Jansen-Mommen, 1993; Khalanski, 1999) en is de belangrijkste foulingsoort in de koelwaterinstallatie van de energiecentrales Velsen en Hemweg langs het Noordzeekanaal (NI). De omgeving in een koelwaterinstallatie is ideaal voor settlement en groei van Hydrozoa. De hoge watersnelheid levert continu zuurstof en voedsel en voorkomt de afzetting van sediment op de kolonies (Boero, 1984). Daarnaast is de predatiedruk beperkt (Roos, 1979).



Figuur 2: *Cordylophora caspia*.

De efficiëntie van chlorering als antifoulingmethode tegen *C. caspia* is in een beperkt aantal wetenschappelijke studies onderzocht en wordt hierbij samengevat.

MATERIAAL EN METHODES

Geteste chlorineconcentraties variëren van 0.1 tot 5 mg/l waarbij kolonies een verschillende blootstellingsduur ondergingen.

1. Continue dosering

Groei, vorm van de hydranten en veranderingen in aantallen zijn allen een indicatie van de conditie waarin *C. caspia* zich bevindt. Aan de hand van continue blootstelling aan 0.1, 0.2, 0.3, 0.4, 0.5, 0.75 en 1 mg/l residuele chloor werden deze responsen nagegaan. De responsen werden opgemeten na 1, 2, 3, 4, 5, 6 en 7 dagen.

2. Beperkte dosering

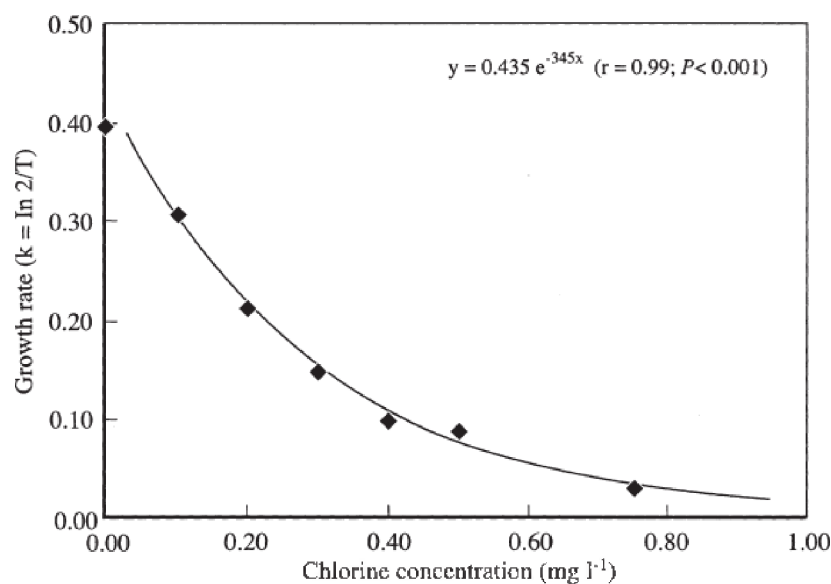
Een kortere blootstelling werd getest omdat dit meer in overeenstemming is met de economische en milieutechnische mogelijkheden van een koelwaterinstallatie. De *Cordylophora* kolonies werden gedurende 105 minuten blootgesteld aan 0,2, 0,5, 1, 2, 3, 4 en 5 mg/l chloor. Na de blootstelling werden de kolonies in niet-gechloreerd water geplaatst. Aantallen hydranten werden geteld voor en na blootstelling, na 10 en na 20 dagen.

3. Onderbroken dosering

Om het effect van onderbroken chlorering na te gaan werden een aantal kolonies blootgesteld aan 1, 2, 3 en 4 mg/l chloor gedurende drie doseringen van 20 minuten binnen 24h. Tussen iedere blootstelling werden de kolonies in niet-gechloreerd water geplaatst gedurende 7h en 40 minuten tot de volgende dosering. Aantallen hydranten werden geteld voor en na elke 20 minuten blootstelling en na 7 en 14 dagen.

RESULTATEN

1. Continue dosering

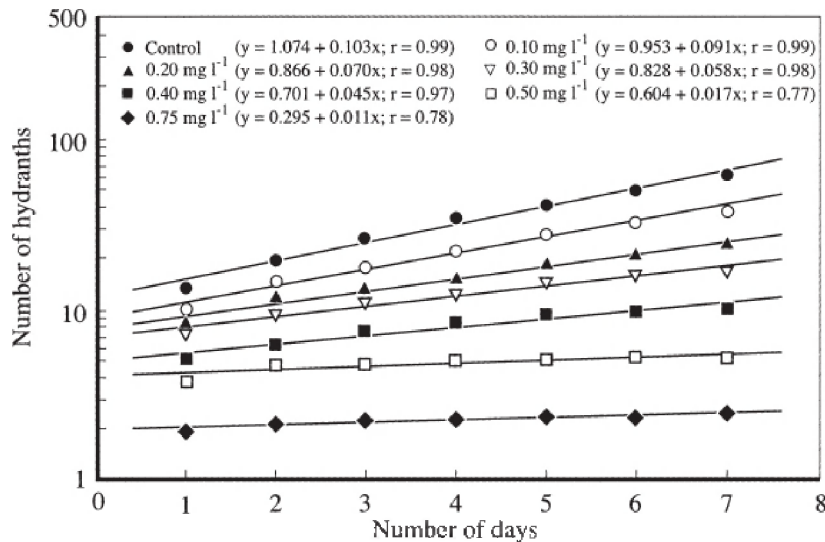


Figuur 3: Groeisnelheid k van *C. caspia* bij verschillende chloorconcentraties.

Groeisnelheid was sterk gecorreleerd met chloorconcentraties (exponentiële regressie, $r = 0.99$; $P < 0.0001^9$) (Fig. 3), waarbij bij 0.5 mg/l residuele chloor de groeisnelheid k van *C. caspia* tot een kwart van de controle was gereduceerd.

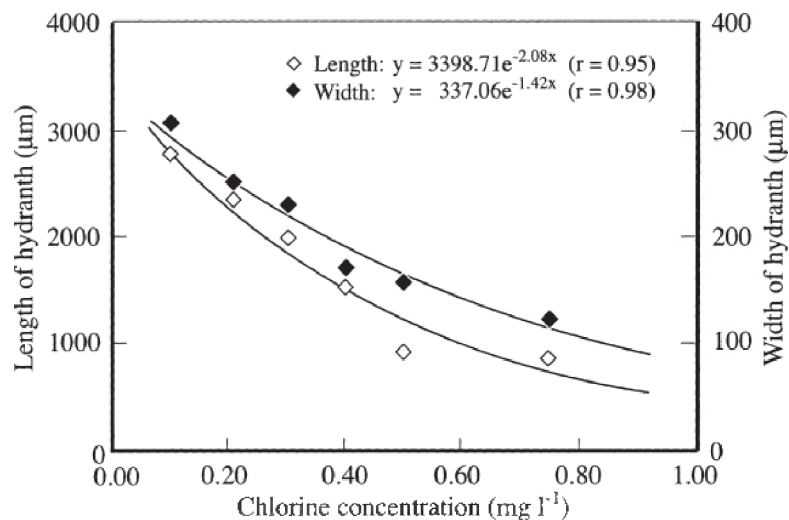
⁹ P geeft een niveau van significantie weer. Men spreekt van een significante uitkomst als deze uitkomst in sterke mate de veronderstelling ondersteunt dat het verschil niet door toeval is ontstaan, maar door iets anders. Hoe kleiner P, hoe signifikanter de gestelde stelling. Als $P \leq 0.05$: significant; als $P \leq 0.01$: hoog significant; $P \leq 0.0001$: zeer hoog significant.

De groei van *C. caspia* uitgedrukt in toename van aantal hydranten vertoont een progressieve afname als de chloorconcentratie toeneemt van 0 tot 0.75 mg/l (Fig. 4). Maximale groei vonden we bij controle omstandigheden, waarbij het gemiddeld aantal hydranten toenam van 13.2 ± 2.3 op dag 1 naar 58.7 ± 6.9 na dag 7. Geen groei werd waargenomen bij 1 mg/l residuele chloor.



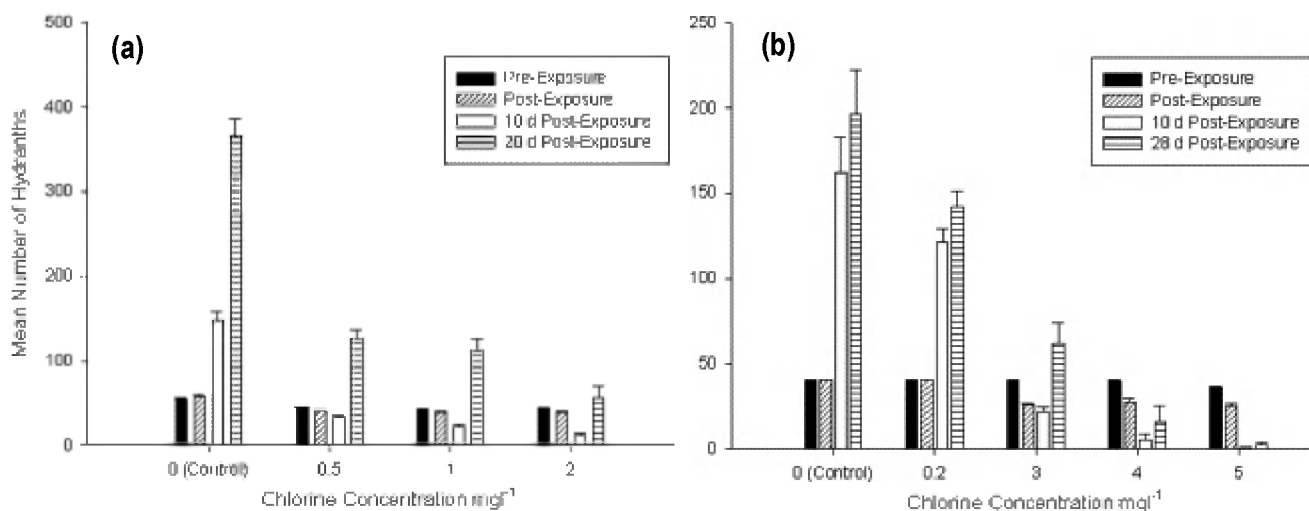
Figuur 4: Groei van *C. caspia*, uitgedrukt als toename in aantal hydranten bij verschillende chloorconcentraties. Data zijn uitgedrukt als het gemiddelde van 21 hydroiden.

Onder optimale condities produceert *C. caspia* grote hydranten met talrijke tentakels. De lengte en breedte van de hydranten werden echter significant gereduceerd bij verschillende chloorconcentraties (Fig. 5). De hydrantlengte varieerde tussen 3109 μm bij controleomstandigheden en 844 μm bij 0.75 mg/l residuele chloor.



Figuur 5: Relatie tussen hydrantgrootte van *C. caspia* en chloorconcentratie. Elk punt stelt een gemiddelde voor van 107-259 hydranten.

2. Beperkte dosering



Figuur 6: Gemiddeld aantal hydranten voor en na 105 minuten blootstelling aan verschillende chloorconcentraties.

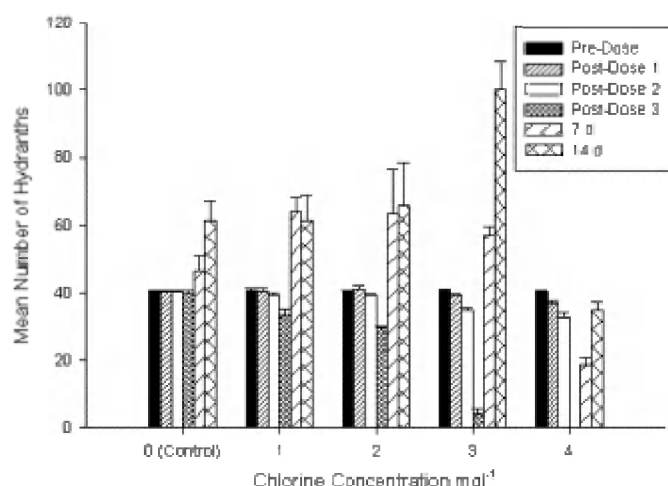
De kolonies werden evenredig aangetast met toenemende chloorconcentraties. In het eerste experiment (Fig. 6a) nam het gemiddeld aantal hydranten drastisch af na 10 dagen bij 1 mg/l ($P < 0.0001$) en 2 mg/l ($P < 0.002$) terwijl geen significante afname werd geobserveerd bij 0.5 mg/l. Een significante regeneratie vond echter plaats voor alle concentraties na 20 dagen ($P < 0.0001$).

Ook het tweede experiment (Fig. 6b) leidde tot significante veranderingen in hydranten-aantallen ($P < 0.0001$). Blootstelling aan 4 en 5 mg/l veroorzaakte significante afnames na 28 dagen (respectievelijk $P < 0.005$ en $P < 0.0001$). Minimale negatieve effecten werden waargenomen bij 0.2 mg/l. Regeneratie van kolonies gebeurde bij 0.2, 3 en 4 mg/l en was minimaal bij 5 mg/l, zelfs 28 dagen na de blootstelling.

3. Onderbroken dosering

Significante veranderingen in aantallen vonden plaats. Specifiek 7 en 14 dagen na de laatste blootstelling namen aantallen significant toe bij 1 (respectievelijk $P < 0.0001$ en $P < 0.0004$) en 2 mg/l (respectievelijk $P < 0.039$ en $P < 0.024$) in vergelijking met de aantallen voor de blootstelling (Fig. 7).

Bij 3 en 4 mg/l nam het aantal hydranten significant af na de 3^e dosering in vergelijking met de aantallen voor blootstelling ($P < 0.0001$). Kolonies blootgesteld aan 4 mg/l telden significant minder hydranten na 7 dagen ($P < 0.001$). Alle kolonies vertoonden significante toenames in aantal hydranten na 14 dagen behalve bij 4 mg/l chloorconcentratie waar de aantallen niet significant verschilden van de aantallen voor blootstelling ($P < 0.655$).



Figuur 7: Gemiddeld aantal hydranten voor en na 3 20 minuten blootstellingen binnen 24h bij verschillende chloorconcentraties.

DISCUSSIE

In de praktijk wordt de reactie van een hydroïd kolonie meestal geschat door het monitoren van 3 responsen: hydrantengroei, gonozoïdproductie en stolongroei (Stebbing, 1979). In deze studies werd de respons van *C. caspia* in termen van groei bij verschillende chloorconcentraties tussen 0.1 en 5 mg/l bestudeerd. De eerste studie bestudeerde de effecten op groei van *C. caspia* bij continue dosering van chloor, aangezien dit de eerste studie betrof die het effect van chlorering op *C. caspia* onderzocht (Rajagopal et al., 2002). In de daarop volgende studies werd het gebruik van chlorering binnen realistische doseringsprogramma's in acht genomen, waardoor getest werd met beperkte en onderbroken chlorering bij verschillende concentraties (Folino-Rorem and Indelicato, 2005).

1. Continue dosering

Data toonden duidelijk aan dat de groeisnelheid van *C. caspia* in de aanwezigheid van chloor een dosisafhankelijke variatie vertoont. Ook de grootte van de hydranten ondergaan een progressieve afname bij toenemende chloorconcentratie van 0.1 tot 0.75 mg/l, wat strenge groeilimitaties aanduidt bij de geteste concentraties. **Geen groei werd geobserveerd bij 1 mg/l residuele chloor.**

De studie toont aan dat bij chloorconcentraties > 0.5 mg/l de hydranten volledig geabsorbeerd worden binnen 6 dagen. Dit in tegenstelling tot andere foulingsoorten zoals mosselen, waarbij relatief hogere concentraties of langere contacttijden vereist zijn om groei te onderdrukken (Jenner et al., 1998). Rajagopal et al. (1994) vond dat de groei van adulte Brakwatermossel *Mytilopsis leucophaeata* (Conrad) pas gereduceerd werd met 45% in vergelijking met ongechloreerde mosselen na 52 dagen. *M. leucophaeata* en *C. caspia* bestaan vaak naast elkaar in koelwaterinstallaties die brakwater gebruiken (Jenner et al., 1998; Verween, persoonlijke

observatie). Dit wil zeggen dat een chloorregime gericht op adulte *M. leucophaeata* ook *C. caspia* zal bestrijden aangezien deze gevoeliger is aan chloor dan *M. leucophaeata*.

Echter, in tegenstelling tot mosselen kan de coenosarc van *C. caspia* overleven gedurende een periode tot 15 dagen en nadien opnieuw genereren in hydranten bij betere omstandigheden. De studie toont aan dat **minstens 21 dagen continue chlorering bij concentraties 0.5 mg/l (bij 20 °C) nodig is om de coenosarc onherstelbaar te beschadigen**. Opnieuw zijn bij *M. leucophaeata* en ook bij *Mytilus edulis* (L.) langere contacttijden nodig om 100% mortaliteit te veroorzaken, respectievelijk 74 en 62 dagen (bij 20°C). *C. caspia* is dan wel weer resistenter dan de brakwaterpok *Balanus improvisus* Darwin die al na 17 dagen bij 0.5 mg/l 100% mortaliteit vertoont.

2. Beperkte dosering

In het algemeen nam het aantal hydranten af met toenemende chloorconcentratie. Zoals verwacht veroorzaken hogere concentraties een significanter effect. Hogere concentraties (0.2 – 5 mg/l) bij kortere blootstelling (105 minuten) werden getest in vergelijking met de vorige studie. Deze kortere blootstelling was ook effectief bij *C. caspia* groei, alhoewel regeneratie plaatsvond.

De studie toont duidelijk aan dat *Cordylophora* regeneert na blootstelling aan verschillende chloorconcentraties gedurende een korte tijd, wat bewijst dat de interne coenosarc-fragmenten beschermd worden door de chitineuse perisarc.

3. Onderbroken dosering

Het toepassen van een onderbroken dosering (3 * 20 minuten binnen 24h) bij verschillende chloorconcentraties (1-4 mg/l) lijkt effectiever bij hogere concentraties. Maar zelfs bij 4 mg/l **blijft de regeneratie na 14 dagen groot**. Opnieuw wordt de beschermende functie van de perisarc aangetoond.

De effectiviteit en kosten-baten analyse van het doseren gedurende enkele dagen staat in contrast met een kortere maar misschien meer voor de hand liggende behandeling in energiecentrales.

CONCLUSIE

Cordylophora caspia blijkt een persistente biofouler door zijn opvallende mogelijkheid tot regeneratie. Bepalen hoe dit organisme regeneert en hoeveel weefsel daarvoor nodig is na chlorering zou nuttige informatie voor de controle ervan opleveren.

Het doel van biocidegebruik in koelwaterinstallaties is om de groei van biofoulingorganismen te beperken zonder de lozingsnormen te overschrijden. Aangezien nog niet alle informatie over de optimale bestrijding van *C. caspia* gekend is, lijkt het in het huidige doseringsschema van BASF Antwerpen NV het meest voor de hand liggend om door te blijven gaan met de onderbroken dosering. Als de dosering steeds binnen de 14 dagen plaatsvindt, zal de regeneratie van *C. caspia* beperkt blijven. Het lijkt momenteel echter niet mogelijk om, met het huidige doseringsregime, *C. caspia* volledige te elimineren binnen het koelwatersysteem.

REFERENTIES

- ARNDT, EA (1984) The ecological niche of *Cordylophora caspia* (Pallas, 1771). *Limnologica* 15 (2): 469-477.
- ARNDT, EA (1989) Ecological and physiological and historical aspects of brackish water fauna distribution. In: Ryland, OS, Tyler, PA (eds) *Reproduction, genetics and distribution of marine organisms*. Olsen & Olsen, Fredenborg, Denmark: 327-338.
- BOERO, F (1984) The ecology of marine hydroids and effects of environmental factors: a review. *PSZN Mar Ecol* 5: 93-118.
- FOLINO-ROREM, NC, INDELICATO, J (2005) Controlling biofouling by the colonial hydroid *Cordylophora caspia*. *Water Res* 39: 2731-2737.
- JENNER, HA, JANSSEN-MOMMEN, JPM (1993) Monitoring and control of *Dreissena polymorpha* and other macrofouling bivalves in the Netherlands. In: Nalepa TF, Schloesser DW (Eds) *Zebra Mussels: biology, impacts and control*, CRC, Florida, USA: 537 - 554.
- JENNER, HA, WHITEHOUSE, JW, TAYLOR, CJL, KHALANSKI M (1998) Cooling water management in European power stations: biology and control. *Hydroecol App* 1-2: 225 p.
- JORMALAINEN, V, HONKANEN, T, VUORISALO, T, LAIHONEN, P (1994) Growth and reproduction of an estuarine population of the colonial hydroid *Cordylophora caspia* (Pallas) in the northern Baltic Sea. *Helgol Wiss Meeresunters* 48: 407-418.
- KHALANSKI, M (1999) Research and development division. Electricité de France. Chatou Cedex, France.
- RAJAGOPAL, S, VAN DER VELDE, G, JENNER, HA (1994) Aangroeibestrijding van de brakwatermossel *Mytilopsis leucophaeata* bij de kerncentrales Hemweg en Velsen. Deel 2: thermische bestrijding en chlorering. KEMA-rapport: 45 pp.
- RAJAGOPAL, S, VAN DER VELDE, G, VAN DER GAAG, M, JENNER, HA (2002) Laboratory evaluation of the toxicity of chlorine to the fouling hydroid *Cordylophora caspia*. *Biofouling* 18 (1): 57-64.
- ROCH, F (1924) Experimentelle Untersuchungen an *Cordylophora caspia* (Pallas) über die Abhängigkeit ihrer geographischen Verbreitung und ihrer Wuchsformen von den physikalisch-chemischen Bedingungen des umgebenden Mediums. *Z Morphol Oekol Tiere* 2: 350-436.
- ROOS, PJ (1979) Two-stage life cycle of a *Cordylophora* population in the Netherlands. *Hydrobiologia* 62: 231-239.
- STEBBING, ARD (1979) An experimental approach to the determinants of biological water quality. *Philos Trans R Soc Lond Ser B Biol Sci* 286:465-481.

HET PROBLEEM

In 1987 is het Volkerak afgesloten van de invloed van de zee. Hiermee is een van de grootste zoetwatermeren van Nederland ontstaan, het Volkerak-Zoommeer. Sinds het begin van de jaren negentig verandert het Volkerak-

Zoommeer iedere zomer in een groene soep van giftige *blauwalgen*.

Blauwalgen zijn schadelijk voor mens en dier. Het water van het Volkerak-Zoommeer is 's zomers onbruikbaar voor de landbouw, zwemmen is verboden en jachthavens en oevers liggen vol met stinkende drijfslagen. In de nazomer van 2002 heeft een massale vogelsterfte plaatsgevonden in het Volkerak-Zoommeer (figuur 1), mogelijk veroorzaakt door giftige *blauwalgen*.

De *blauwalg* die in het Volkerak-Zoommeer voor overlast zorgt, heet *Microcystis*. Deze *blauwalg* groeit in kolonies die omgeven worden door een slijm laag (figuur 2). Sommige *Microcystis*-soorten maken gifstoffen aan.

De bekendste gifstoffen zijn *microcystines*, die vooral schadelijk zijn voor de lever (Falconer, 1999; Carmichael *et al.*, 2001; Huisman *et al.*, 2005). Deze gifstoffen kunnen vogel- en vissterfte veroorzaken en ernstige gezondheidsklachten bij de mens.

De belangrijkste oorzaken van de massale *blauwalgengroei* in het Volkerak-Zoommeer zijn de grote aanvoer van voedingsstoffen via de Brabantse rivieren en de lange verblijftijd van het water. Om de jaarlijks terugkerende bloei van *blauwalgen* te bestrijden zijn twee verschillende beheersmaatregelen onderzocht: doorspoelen van het meer met zoet water en verzilten van het meer met zout water.

DE OPLOSSING

Doorspoelen: de verblijftijd van het water wordt verkort door de inlaat van zoet water vanuit het Hollands Diep te vergroten. Als gevolg hiervan spoelen de *blauwalgen* naar de Westerschelde waar ze afsterven door de zoutshock. In het Volkerak-Zoommeer nemen andere algensoorten de plaats in van de *blauwalgen*, zoals kiezelwieren en groenalgen. Deze algen zijn niet giftig en vormen geen drijfslagen.

Verzilten: *blauwalgen* zoals *Microcystis* kunnen niet groeien in zout water. Door het zoutgehalte van het meer te verhogen zal *Microcystis* verdwijnen. Daarvoor in de plaats zullen andere algen komen die aangepast zijn aan

brak of zout water.

Beide maatregelen leken bruikbaar om een einde te maken aan de *blauwalgenbloei* in het Volkerak-Zoommeer. Maar wat zijn de randvoorwaarden voor een succesvol resultaat?

Uiteindelijk is er maar 1 oplossing mogelijk: VERZILTEN MET ZOUT WATER = alternatief ZOUT

MEER INFO

Alternatief Zout kan de blauwalgenproblematiek wel het hoofd bieden. Dit alternatief brengt alleen wel negatieve effecten met zich mee, die moeten worden opgelost. Zo is er meer getijdenbeweging op het Volkerak-Zoommeer nodig om te voorkomen dat er overlast door andere algen ontstaat. Door de getijdenbeweging gaat het waterpeil op het Volkerak-Zoommeer meer variëren dan is afgesproken in het Peilbesluit 1996. Bovendien leidt Alternatief Zout zeer waarschijnlijk tot meer zoutindringing op het Hollandsch Diep en het Haringvliet dan aanvankelijk was voorzien. Hierdoor voldoet het alternatief niet aan de uitgangspunten die aan het begin van de studie waren vastgesteld.

Omdat de blauwalgenproblematiek in het Volkerak-Zoommeer opgelost moet worden, wil het BOKV meer zicht krijgen op het Alternatief Zout in combinatie met een beperkte getijdendynamiek. Deze combinatie is het Aangepaste Alternatief Zout genoemd. In overleg met de staatssecretaris van Verkeer en Waterstaat heeft het BOKV het initiatief genomen om aanvullend onderzoek te doen naar het Aangepaste Alternatief Zout. Dit onderzoek wordt naar verwachting in de eerste helft van 2008 afgerond.

Het BOKV wil betrokkenen en belanghebbenden in staat stellen kennis te nemen van het Aangepaste Alternatief Zout en van het onderzoek dat hiernaar wordt gedaan. Daarom heeft het BOKV besloten om een Aanvullende Startnotitie uit te brengen. Hierin staan op hoofdlijnen de resultaten van het onderzoek dat tot nu toe is gedaan naar de Alternatieven en de contouren van het **aanvullende onderzoek** naar het Aangepaste Alternatief Zout. (zie bijlage)

- Januari 2007 - Bespreking uitkomsten alternatieven- en effectenstudie in Bestuurlijk Overleg Krammer Volkerak (BOKV)
- Juni 2007 - maart 2008 - Extra onderzoek naar alternatief zout
- April - juli 2008 – Opstellen milieueffectrapport en kosten-batenanalyse en vaststelling door BOKV
- Augustus/september 2008 - Voorgenomen besluit staatssecretaris verkeer en waterstaat
- Oktober 2008 - mei 2009 - Inspraakproces
- Maart 2009 - Start voorbereiding uitvoering
- 2012 - 2015 - Uitvoering

NA EMAIL OM MEER INFORMATIE

Op basis van berekeningen met het Scaldis400 model (2D) en een bestudering van het huidige zoutgehalte in de Antwerpse Havendokken, in relatie tot de zoutgehalten op de Schelde, komen we op een **maximale toename van ongeveer 1 g CL/l in de Havendokken**.

Tijdens overleg, op 3 juni jongstleden, met vertegenwoordigers van MOW, NV De Scheepvaart, het Havenbedrijf en VMM, is afgesproken om deze voorlopige uitkomst nader te onderzoeken.

René Boeters (10.06.2008)

DE BACTERIE

Microbiologie

De legionellabacterie is een zuurstofminnende staafvormige kiem die leeft in zoet water en courant wordt aangetroffen. Onder ideale omstandigheden kan deze bacterie zich verder vermenigvuldigen en ziekteverwekkend zijn voor de mens. De **besmetting** gebeurt **via een aerosol** en de kiem kan zich in andere micro-organismen en in menselijke cellen vermenigvuldigen.

In de familie van de legionellakiemen zijn er thans 40 species en 64 serogroepen beschreven. Eén species, nl. *Legionella pneumophila*, is verantwoordelijk voor ongeveer 90% van de legionella-infecties. Deze species omvat op haar beurt 14 serogroepen waarbij de serogroepen 1, 4 en 6 de meest voorkomende zijn. *L. pneumophila* van serogroep 1 is verantwoordelijk voor meer dan 80% van de gevallen van legionellose.

De groeicapaciteit in water is temperatuurafhankelijk. Onder de 20 °C overleeft *Legionella*, maar is er geen vermenigvuldiging. **Groei ontstaat tussen 20 °C en 50 °C**. Tussen 50 °C en 70 °C sterft *Legionella* af. Hoe hoger de temperatuur, hoe sneller de bacterie sterft.

Ecologie

Hoewel de bacterie in zoet water en in de vrije natuur leeft, moeten er toch een aantal specifieke groeibevorderende bestanddelen aanwezig zijn om ontwikkeling mogelijk te maken. Zo moeten er voldoende aminozuren voorradig zijn en mag het zoutgehalte - en meer bepaald het natriumgehalte - van de omgeving niet te hoog zijn. Op die manier vindt men de bacteriën vaak terug in associatie met amoeben in de buurt van een biofilm. Ook de zuurtegraad van het water is belangrijk: stilstaand water met een pH tussen 5 en 8,5 is ideaal. Zo kan de bacterie voorkomen in rivieren, meren, afvalwater en slijk.

Men treft de kiem niet alleen aan in de vrije natuur, maar ook in verdampingswater van koeltorens, waterverstuivers, waterreservoirs, douches, whirlpools, warmwaterleidingcircuits en bevochtigers van airconditioningsystemen. Omdat de kiemen hier in hoge concentraties kunnen voorkomen en ze zo ook gemakkelijk ingeademd kunnen worden, ontstaan er problemen voor de gezondheid. Er zijn een aantal elementen bekend die de groei van de bacterie gaan bevorderen. Dat geldt onder meer voor de **aanwezigheid van fouling, amoeben, ciliaten en algen** en ijzer of roestafzettingen op de wanden van waterdistributiesystemen. Andere groeibevorderaars zijn voedingsstoffen in het water, rubberen afdichtingen, lange verblijftijden in een distributiesysteem van warm water (35 °C tot 50 °C), gebrekkig of geen onderhoud, onzorgvuldige reparatiewerken, dode punten in distributiesystemen, afwezigheid van desinfecterende middelen of ontoereikende concentraties ervan, en slecht werkende waterbehandelingssystemen in het algemeen.

Na een grondige evaluatie van het Legionellabesluit van 11 juni 2004 vaardigde de Vlaamse regering op 9 februari 2007 een nieuwe versie uit. De vernieuwde wetgeving ging op 4 mei 2007 van kracht. Deze vernieuwde wetgeving heeft een aantal specifieke vereisten voor koelwater en koeltorens.

Algemene maatregelen voor bestaande koeltorens:

- een beheersplan moet opgesteld worden tegen 4 mei 2008
- het meldingsformulier moet ingediend worden bij de afdeling Toezicht Volksgezondheid ten laatste op 4 mei 2008
- bij aanpassingen aan de koeltoren moet een conformiteitattest ter inzage liggen van de toezichthoudende ambtenaar

Specifieke maatregelen voor koeltorens met natuurlijke trek die gebruik maken van oppervlaktewater:

- De temperatuur van het oppervlaktewater dat naar de koeltoren geleid wordt, moet continu gevolgd worden vanaf 1 juni tot en met 15 oktober.
- Jaarlijks in de periode van 1 juni tot 15 oktober: minstens twee stalen nemen in de aafvoerleiding van de koeltoren van het water dat in de toren met de lucht in contact gebracht wordt. Eerste staal: nadat temperatuur van oppervlaktewater gedurende veertien dagen dagelijks boven 20 °C komt, en voor 15 juli. Tweede staal: in het midden van de resterende periode tot 15 oktober.
- De stalen moeten op *Legionella* spp. geanalyseerd worden.
- De staalname en de analyse verlopen volgens de methode voor koeltorenbemonstering en – wateranalyse, beschreven in de erkenning van het geaccrediteerde of erkende laboratorium dat de analyse uitvoert.

BEST BESCHIKBARE TECHNIEKEN

Het voorkomen van *Legionella pneumophila* in een koelwatersysteem kan niet volledig uitgesloten worden. Daarom wordt het als **Best Beschikbare Techniek (BBT)** beschouwd om volgende maatregelen toe te passen:

- stilstaande waterzones vermijden en een voldoende hoge stroomsnelheid voorzien
- koelwaterbehandeling optimaliseren om fouling, algen en groei van amoeben te reduceren
- periodieke reiniging van het koelwaterbassin voorzien
- kwetsbaarheid van de operatoren reduceren door inademing te beperken. Hiertoe dienen neus en mond beschermd te worden bij het binnengaan van een unit of bij hoge drukreiniging van de toren

- gebruik proper water en behandel voor indien mogelijk
- vermijd proceslekken in het koelwatersysteem
- beperk vorming van *Legionella* door licht in de installatie te beperken. Dit vermijdt algengroei
- voorzie eenvoudige toegang voor reiniging
- vermijd verschaling en corrosie
- optimaliseer de constructie om juiste stroomsnelheid te bekomen

Na een verlengde shutdown is het noodzakelijk om het koelwatersysteem te behandelen met een biocide (chloor). Als er bewijs is van vervuiling of contaminatie in het systeem dient het gereinigd te worden en behandeld via shock biocide behandeling voor het opstarten. Desinfectie kan nodig zijn bij ernstige contaminatie. Ervaring leert dat een chemische behandeling vnl. de bacteriën in het water behandelt. Aandacht dient echter ook te gaan naar sedimenten en fouling op het oppervlak. Dit benadrukt het belang van een mechanische reiniging.

BESLUIT

Aangezien de temperatuur in de koelwaterinstallatie zich binnen het kritische niveau voor de ontwikkeling van *Legionella* bevindt, dient dit risico steeds in rekening gebracht te worden. In het referentiedocument betreffende de toepassing van Best Beschikbare Technieken (BBT) in industriële koelwatersystemen (IPPC, 2001) wordt ook aandacht besteedt aan de BBT om *Legionella* te bestrijden. Mogelijke BBT zijn (1) katalytische waterstofperoxide behandeling en (2) stabiliserende halogene biociden. In deze laatste klasse bevindt zich ook chlorering.

Kreps et al. (2007) hebben de BBT bepaald voor *Legionella*-bestrijding in nieuwe sanitaire systemen. Als desinfectie bij mogelijke *Legionella*-infectie worden volgende methoden aangeraden:

Bij **warmwater installaties** zal hiertoe een thermische desinfectie uitgevoerd worden: alle tappunten zullen gedurende 4 minuten gespoeld worden met water op een temperatuur van 70°C.

Bij **koudwater installaties** zal een desinfectie moeten toegepast worden met een desinfectieproduct. De tabel geeft een aantal veel gebruikte desinfectieproducten aan. Zij duidt de vereiste concentratie aan, evenals de nodige contacttijd. Na het verlopen van de contacttijd worden alle kranen geopend en wordt de installatie terug gedurende 2 uren gespoeld. Indien er daarna nog desinfectieproduct aanwezig is kan het aangeraden zijn de kranen nog bijkomend 24 uren te laten lopen, zij het bij een klein debiet.

Desinfectiemiddel	Concentratie	Contacttijd	Neutraliserende oplossing
Natriumhypochloriet (NaOCl)	50 mg/l vrij chloor	12 uur	Zwavedioxide (SO ₂) of natriumthiosulfaat (Na ₂ SO ₃)
Calciumhypochloriet (Ca(ClO) ₂)	50 mg/l vrij chloor	12 uur	Zwavedioxide (SO ₂) of natriumthiosulfaat (Na ₂ SO ₃)
Kaliumpermanganaat (KMnO ₄)	15 mg/l KMnO ₄	12 uur	Zwavedioxide (SO ₂) of natriumthiosulfaat (Na ₂ SO ₃) of ijzersulfaat (FeSO ₄)
Waterstofperoxide (H ₂ O ₂)	150 mg/l H ₂ O ₂	12 uur	Natriumthiosulfaat (Na ₂ SO ₃) of natriumsulfiet (Na ₂ SO ₃) of calciumsulfiet (CaSO ₃)

REFERENTIES

IPPC (2001) Reference document on the application of Best Available Techniques to Industrial Cooling Systems: 335 pp.

KREPS, S, DE CUYPER, K, VANASSCHE, S, VRANCKEN, K (2007) Best Beschikbare Technieken (BBT) voor Legionella-beheersing in nieuwe sanitaire systemen. 2007/IMS/R/090: 200 pp.

WWW.ZORG-EN-GEZONDHEID.BE/LEGIONELLA.ASPX

