

Van

Jeroen Geurts, Milo de Baat

Onderwerp

DPWE Bekkenmanagement

Datum

28 juli 2022

Bestemd voor

project begeleidingsgroep DPWE bedrijven:
Bram Martijn (PWN), Jink Gude (PWN),
Emanuelle Prest (PWN-T), John Boogaard
(PWN), Myrthe Fonck (PWN), Eric Penders
(HWL), Giovanni Sandrini (Evides), Franka
Kramer (Dunea), Renee van der Aa (Waternet),
Cheryl Bertelkamp (Waternet), Leon Kors
(Waternet)

Kopie / afschrift

Paul van der Wielen (KWR)
Petra Holzhaus (KWR)
Edu Dorland (KWR)
Peer Timmers (KWR)

Pagina

1/30

Rapportnummer

KWR 2022.082

De invloed van cyanobacteriën op de waterkwaliteit in spaarbekkens voor drinkwaterproductie

Samenvatting

Vanuit verschillende DPWE begeleidingsgroepen zijn actuele onderwerpen rondom bekkenmanagement aangedragen waar kennisleemtes en onderzoeksvragen voor bestaan: cyanobacteriën en –toxines in spaarbekkens, aanleg van drijvende zonnepanelen, inrichting van nieuwe winplassen en de rol van spaarbekkens op de biologische stabiliteit van het drinkwater. Uiteindelijk is ervoor gekozen om het onderzoek te richten op het thema cyanobacteriën, toxines en geur- en smaakstoffen, omdat het aanleggen van nieuwe winplassen niet voor alle bedrijven relevant is en vanwege een aantal nieuwe ontwikkelingen op het gebied van het monitoren en managen van cyanobacteriën en hun toxines in (drink)water. In eerste instantie zouden er ook metingen gedaan worden in spaarbekkens van Evides en Dunea om te beoordelen welke methoden geschikt zijn voor de beoordeling van de waterkwaliteit en welke strategieën om cyanobacteriën te voorkomen, bestrijden of te zuiveren effectief zijn. Omdat hier uiteindelijk toch te weinig draagkracht voor was bij de begeleidingsgroepen, is alleen een probleemanalyse/literatuurstudie en beperkte data-analyse uitgevoerd.

Toxines en geur- en smaakstoffen, secundaire metabolieten van cyanobacteriën, kunnen tot problemen leiden bij de productie van drinkwater. Voor vier toxines heeft de WHO een richtlijn voor drinkwater opgesteld. Voor microcystine-LR is een nieuwe Europese drinkwaterrichtlijn opgesteld. Om hieraan te voldoen, kan het nodig zijn om de hoeveelheid cyanobacteriën te reduceren. Dit kan door maatregelen op verschillende schaalniveaus: stroomgebied, waterlichaam, innamepunt en zuivering. Bij bestaande en nieuwe spaarbekkens is het aan te bevelen om een jaarlijks terugkerend meetprogramma op te zetten om de ontwikkeling van omgevingsfactoren, cyanobacteriën, toxines en geur- en smaakstoffen in de tijd te kunnen volgen. Dit is van belang om de risico's in kaart te brengen en hierop te handelen door inzet van passende maatregelen op het juiste schaalniveau. Pas als er een potentieel probleem is, dienen verdere acties uitgezet te worden. Als je niets meet, kom je voor verrassingen te staan.

Om het nut van een goede monitoring te illustreren, is een data-analyse uitgevoerd met langjarige meetgegevens van twee spaarbekkens van Evides met verschillend beheer en functie, Petrusplaat en De Grote Rug. Spaarbekken

Petrusplaat is een relatief diep en helder spaarbekken waar beluchting plaatsvindt. De Grote Rug is een relatief ondiep spaarbekken, wat op dit moment niet gebruikt wordt en waar weinig tot geen doorstroming plaatsvindt, geen beluchting wordt toegepast en waar soms zuurstofloosheid optreedt. Omdat er nog geen toxines waren gemeten, lag de focus op de biovolumes aan cyanobacteriën, de concentraties geur- en smaakstoffen en omgevingsfactoren. Er waren grote verschillen in het jaarlijkse patroon van geur- en smaakstoffen, maar geen grote verschillen tussen de spaarbekkens. In De Grote Rug zijn planktonische cyanobacteriën de voornaamste producenten van geur- en smaakstoffen en in Petrusplaat zijn dat bentische cyanobacteriën. Planktonische cyanobacteriën kunnen geïdentificeerd en gekwantificeerd worden in een mengmonster van water op verschillende dieptes. Voor het in kaart brengen van bentische cyanobacteriën moet er worden gedoken. Het wordt aanbevolen om ook toxines te meten, om het risico op overschrijding van de WHO-richtlijnen te bepalen.

Verder is in deze memo een overzicht gegeven van de meest gebruikte meet- en monitoringstechnieken voor hoeveelheden en soorten cyanobacteriën, concentraties metaboliëten, nutriënten en omgevingsfactoren. Meettechnieken om toxines te meten hebben allemaal hun eigen voor- en nadelen, maar chromatografische analysetechnieken (LC/MS en GC/MS) zijn nauwkeuriger en niet per se duurder dan snelle screeningsmethoden (zoals ELISA) en de meer indirecte qPCR technieken.

Metingen hebben als doel om te controleren of dichtheden van cyanobacteriën en/of concentraties van toxines en geur- en smaakstoffen niet te hoog worden en om te achterhalen welke omgevingsfactoren (nutriënten, temperatuur, etc.) hierbij een rol spelen. Het meten van dichtheden cyanobacteriën is eenvoudiger dan het meten van cyanotoxines, en kan daarom gebruikt worden als indicatie voor toxineconcentraties. Er kunnen metingen worden gedaan bij het in gebruik nemen van nieuwe spaarbekkens of in het geval dat er cyanobacteriën worden gesignaleerd in bestaande spaarbekkens. Metingen verschaffen ook inzicht in de effectiviteit van het huidige bekkenmanagement en de zuiveringstechnieken voor het risicomangement van cyanobacteriën en hun metaboliëten in spaarbekkens.

1 Achtergrond

Aanleiding

Uitstekende (drink)waterkwaliteit begint bij een goede bron, maar daarnaast bij goed bekkenmanagement. Er zijn een aantal nieuwe ontwikkelingen die mogelijk effect hebben op de waterkwaliteit en biologische stabiliteit van de spaarbekkens en/of op de natuurdoelen die voor deze spaarbekkens gelden (vanuit KRW en Natura 2000). Eén van deze ontwikkelingen ligt op het gebied van toxines van cyanobacteriën (aangeduid als cyanotoxines in dit rapport), zoals:

- een Europese drinkwaterrichtlijn voor microcystine-LR van 1 µg/L (EU, 2020);
- nieuwe (voorlopige) WHO-richtlijnen voor diverse cyanotoxines (gepubliceerd in 2019-2020);
- verbeterde detectiemethodes (LC-MS/MS en DNA technieken);
- (nieuwe) toxines waarvan nog niet is onderzocht of deze voorkomen in spaarbekkens.

Om te komen tot een up-to-date risicoanalyse, is het aan te bevelen om onderzoek te doen naar cyanotoxines in spaarbekkens. Een andere ontwikkeling betreft het aanleggen van (drijvende) zonnepanelen op spaarbekkens. Er is nog weinig bekend over de effecten hiervan op zaken als waterkwaliteit, het toegepaste bekkenbeheer, fytoplanktonpopulaties en de aanwezige ondergedoken waterplanten. Dit wordt nu echter in een TKI project

opgepakt. Een derde vraagstuk is gerelateerd aan de wens van drinkwaterbedrijven om, met oog op de toegenomen drinkwatervraag, te komen tot nieuwe bronnen. Het in gebruik nemen van nieuwe plassen/bekkens voor drinkwaterproductie brengt vragen met zich mee over de juiste manier van inrichting.

Terugblik oriënterend overleg

Op 8 september 2020 heeft een eerste oriënterend overleg plaatsgevonden met betrokkenen vanuit de DPWE-bedrijven, HWL en KWR. Alleen PWN was niet vertegenwoordigd. De DPWE Begeleidingsgroepen Bronnen (trekker), Waterkwaliteit, en Zuivering waren bij dit overleg vertegenwoordigd, wat aangeeft dat dit onderwerp duidelijk thema overstijgend is. Tijdens dit overleg zijn de onderwerpen zoals hierboven beschreven, uitvoerig bediscussieerd en zijn verschillende relevante aspecten geïdentificeerd (Tabel 1).

Tabel 1. Relevante aspecten per onderwerp binnen het thema bekkenmanagement

Onderwerp	Onderdelen probleemanalyse (Fase 1)
Cyanobacteriën	<ul style="list-style-type: none"> - Aanwezigheid van en effectiviteit zuivering (nieuwe) cyanotoxines, cyanopeptides, geur- en smaakstoffen, en biopolymeren - Mate van toxiciteit en nieuwe worst-case risico-analyses - Geschiktheid bestaande analysemethodes, drempelwaarden irt tot detectiewaarden - Rol van mosselen in cyanobacteriedichtheden? - P-concentraties: defosfateren, nalevering uit de waterbodem, bijdrage door vogels
(Drijvende) zonnepanelen	<ul style="list-style-type: none"> - Wat zijn de effecten op waterkwaliteit en (micro)biologische stabiliteit? - Effecten op natuurdoelen vanuit KRW en Natura 2000 - Effecten op overige flora en fauna
Inrichting nieuwe winplassen	<p>Hoe richt je een nieuw spaarbekken of winplas in op een ecologisch verantwoorde wijze?</p> <ul style="list-style-type: none"> - Waterkwaliteit en biologische stabiliteit drinkwater - Micro- en macrofauna - Verblijftijden - P-concentraties - Analyse Microbiologische Veiligheid Drinkwater (AMVD) - Toepassing ijzerdosering en beluchting - Relatie tussen Natura 2000 of KRW doelstellingen en zuiveringsprocessen drinkwaterbedrijf
Rol spaarbekens bij biologische stabiliteit drinkwater	<ul style="list-style-type: none"> - In hoeverre speelt de biologische productiviteit in de bekens een rol? - Hoe is de biologische productiviteit goed te meten? - Invloed van (quagga)mosselen op de biologische stabiliteit? - Invloed van aanwezigheid van andere specifieke organismen op biologische stabiliteit? - Betere karakterisatie van Natural Organic Matter (NOM) met FEEM-PARAFAC? - Defosfateren als mogelijke oplossing?

Het zijn onderwerpen die voor alle DPWE-bedrijven actueel zijn en er is derhalve gedeelde interesse om deze onderwerpen verder uit te werken. Ook is in dit overleg duidelijk geworden dat er behoefte is aan een getrapte aanpak: eerst een fase waarin over genoemde onderwerpen een probleemanalyse wordt uitgevoerd. Op basis van een synthese van bestaande literatuur, en kennis bij betrokken organisaties wordt in fase 1 (deze memo) een overzicht gemaakt van wat al bekend is, en welke kennisleemtes er nog zijn. Om de kennisleemtes weg te nemen, worden onderzoeksvragen geformuleerd en geprioriteerd. In fase 2 wordt de meest urgente onderzoeksvraag opgepakt. Afstemming over deze onderzoeksvraag vindt plaats tussen de project-begeleidingsgroep (BG) en de stuurgroep.

2 Uitwerking fase 1

Als tweede stap in het prioriteren van de onderzoeksvragen zijn in een overleg op 11 februari 2021 met de BG de mogelijke onderzoeksthema's besproken. De vier hoofdthema's waren:

- 1) Cyanobacteriën en –toxines in spaarbekkens
- 2) De aanleg van drijvende zonnepanelen
- 3) De inrichting van nieuwe winplassen
- 4) De rol van spaarbekkens op de biologische stabiliteit van het drinkwater

Deze thema's waren op hun beurt onderverdeeld in meerdere onderzoeksvragen. Tijdens het overleg is besloten welke onderzoeksvragen de hoogste prioriteit en urgentie dragen bij de DPWE bedrijven. De resultaten kunnen als volgt worden samengevat:

- Binnen het thema "Cyanobacteriën en –toxines in spaarbekkens" ligt de nadruk vooral op de vragen over de **mate van toxiciteit**, de **aanwezigheid en effectiviteit van de zuivering** en de **geschiktheid van de bestaande analysemethoden**.
- Momenteel loopt er een TKI project over zonnepanelen op spaarbekkens. Daarom is tijdens het overleg besloten tijdens het huidige onderzoek geen nieuwe informatie hierover te genereren. De bevindingen van het TKI project worden op de voet gevolgd en de gegenereerde kennis zal met de deelnemende drinkwaterbedrijven gedeeld worden in de vorm van een onderzoeksrapport wanneer dit beschikbaar is.
- Daarnaast zijn binnen het thema "Inrichting van nieuwe winplassen" de vragen over **waterkwaliteit en de biologische stabiliteit van het drinkwater**, de **verblijftijden in de spaarbekkens** en de **relatie met natuurdoelen Natura 2000 en KRW** het meest relevant.
- Wat betreft de effecten op (micro)biologische stabiliteit is er vooral aandacht voor de **rol van (micro)biologische productiviteit** en het **meten van deze productiviteit**. Inmiddels is Evides een intern project gestart rond dit thema. Een thema overstijgend onderwerp dat meermaals terugkomt, is de rol van fosfaat en defosfateren in elk van deze thema's.

Initieel werd besloten om de inventarisatie te hangen aan het grotere kapstok thema "Inrichting van nieuwe winplassen", met de motivatie dat binnen dit thema alle relevante vraagstukken die nu spelen bij bekkenmanagement aan bod komen. Wat ook duidelijk was geworden, is dat cyanobacteriën en –toxines en biologische stabiliteit als relevant gekenmerkt werden door alle deelnemers.

Omdat niet voor alle drinkwaterbedrijven het aanleggen van nieuwe winplassen relevant is, is uiteindelijk gekozen om de probleemanalyse te richten op het thema cyanobacteriën, toxines en geur- en smaakstoffen als kapstok en

als eerste onderzoeksrichting. Onderzoek hiernaar is extra relevant vanwege een aantal nieuwe ontwikkelingen op het gebied van het monitoren en managen van cyanobacteriën en hun toxines in (drink)water:

1. De publicatie van nieuwe (concept) WHO-richtlijnen voor andere cyanotoxines dan enkel microcystines in 2020,
2. De publicatie van de 2^e editie van de WHO gids voor het managen van toxische cyanobacteriën in water in 2021 (inclusief de hierboven genoemde nieuwe WHO-richtlijnen),
3. De publicatie van de nieuwe Europese drinkwaterrichtlijn, waarin microcystine-LR als parameter is opgenomen,
4. De beschikbaarheid van verbeterde detectiemethodes (LC-MS/MS en DNA technieken),
5. Het bekend worden van (nieuwe) toxines en geur- en smaakstoffen waarvan nooit is onderzocht of ze voorkomen in de spaarbekkens.

In navolging van de bijeenkomst van 11 februari 2021 is daarom besloten het onderzoek te richten op risicoanalyse van cyanobacteriën en hun toxines, waarvoor nieuw onderzoek naar cyanotoxines in spaarbekkens gewenst is. De overkoepelende hoofdvragen van een dergelijk onderzoek zouden zijn:

- *Hoe kan de aanwezigheid en groei van cyanobacteriën verminderd worden?*
- *Wat is de effectiviteit van de momenteel aanwezige zuiveringen voor cyanobacteriën en –toxines, en andere cyanobacteriële metaboliëten, in drinkwater?*

Hiervoor is in eerste instantie een probleemanalyse uitgevoerd (hoofdstuk 3), waarvan een eerste versie in mei 2021 is gedeeld met de BG. De rapporten en artikelen die door de BG zijn aangeleverd zijn meegenomen in de volgende probleemanalyse. Op basis van deze probleemanalyse was het de bedoeling om in 2022 het tweede deel van het project te starten met onderzoek naar cyanobacteriën, toxines en geur- en smaakstoffen, welke relevant zijn voor het vaststellen en monitoren van de waterkwaliteit van bestaande en nieuw in te richten spaarbekkens, door metingen te doen in (nieuwe) spaarbekkens van Evides en Dunea. De opbrengsten van dat onderzoek konden dan in een vervolgonderzoek gebruikt worden om te beoordelen of strategieën om cyanobacteriën te voorkomen, bestrijden of te zuiveren effectief zijn. Hiervoor is in november 2021 een geüpdatet projectplan ingediend bij de SG.

Aan de hand van het commentaar op dit aangepaste projectplan is geconcludeerd dat er te weinig draagkracht is voor het projectplan bij de BG, maar ook bij de begeleidingsgroep DPWE waterkwaliteit. De stuurgroep heeft daarom besloten het project te beperken tot de afronding van de probleemanalyse/literatuurstudie en geen meetcampagne (fase 2) op te starten. Het project is daarom in budget teruggebracht. Redenen zijn dat er in het verleden al uitgebreid onderzoek naar gedaan is en dat de nieuwe inzichten beperkt zijn, het niet als een urgent probleem ervaren wordt door de meeste drinkwaterbedrijven en dat het voorgestelde monsterprogramma weinig toegevoegde waarde heeft ten opzichte van het eigen meetprogramma van Evides (en intern onderzoek naar toxines). Er is wel behoefte aan kennisuitwisseling tussen de bedrijven onderling (Dunea-Evides), maar dat hoeft niet in dit project plaats te vinden. De opbrengst van dit project zal zich dus beperken tot een uitgebreide probleemanalyse.

Inmiddels was al wel contact gelegd met de verschillende drinkwaterbedrijven en laboratoria om informatie over bestaande en nieuwe spaarbekkens, bestaande monitoringsprogramma's en beschikbare/gebruikte meettechnieken en analysemethoden op te halen. Ook heeft een student van de WUR meer verdieping in de probleemanalyse bewerkstelligd door een verdere literatuurstudie (verwerkt in hoofdstuk 3) en een data-analyse van bestaande langjarige meetgegevens van twee spaarbekkens van Evides (zie hoofdstuk 4).

3 Probleemanalyse

3.1 Cyanobacteriële bloei

Algen en cyanobacteriën (blauwalgen) komen van nature voor in alle aquatische ecosystemen, zo ook in spaarbekkens. De samenstelling van deze fytoplanktongemeenschap varieert met plaats en tijd, maar door menselijke invloeden kunnen deze variaties extremer worden en tot problemen leiden. Zo kan een verhoogde toevoer van nutriënten naar het water (eutrofiëring) zorgen voor een ongecontroleerde bloei van bepaalde soorten fytoplankton, en langere periodes van extreem warm weer kunnen deze verergeren (Huisman et al., 2018).

Algen en cyanobacteriën produceren een gigantische diversiteit aan stoffen (metabolieten) (Lee et al., 2017). Vooral cyanobacteriën produceren soms giftige metabolieten: cyanotoxines. Maar ook de productie van ongewenste geur- en smaakstoffen behoren tot de metabolieten die door cyanobacteriën geproduceerd kunnen worden (Suurnäkki et al., 2015). Het steeds vaker voorkomen van ongecontroleerde cyanobacteriële groei en bloei kan daarmee leiden tot een bedreiging van de waterkwaliteit voor zowel de ecologie, recreatie en drinkwaterwinning (WHO, 2021). De toenemende problematiek van cyanobacteriële bloei is daarmee zondermeer ook een aandachtsveld voor drinkwaterbedrijven. In de Verenigde Staten zijn verscheidene bekende en minder bekende cyanobacteriële toxische en bioactieve metabolieten aangetroffen in drinkwaterbronnen en conventionele zuiveringsinstallaties (Beversdorf et al., 2018). De aanpak van problemen veroorzaakt door cyanobacteriën, cyanotoxines en andere ongewenste metabolieten stelt drinkwaterbedrijven voor een unieke uitdaging: enerzijds moeten de cyanobacteriën zelf bestreden worden, omdat door grote hoeveelheden planktonisch materiaal de microzeven verstoppen (Wagenvoort, 2010), terwijl anderzijds de chemische dreiging van de toxines en andere metabolieten aangepakt moet worden.

Bij het in kaart brengen van de risico's van cyanobacteriën kan er onderscheid gemaakt worden tussen de levenswijze van cyanobacteriën. Planktonische cyanobacteriën zweven vrij in het water, in tegenstelling tot bentische cyanobacteriën die op de bodem leven. Wanneer de omstandigheden bevorderlijk zijn voor de groei van planktonische cyanobacteriën kunnen ze het hele ecosysteem domineren. Dit kan leiden tot grote hoeveelheden cyanobacteriën en dikke, schuimige drijfvlagen aan het oppervlak. Ook kan in deze situatie de productie van toxines en secundaire metabolieten sterk toenemen. De problemen van bentische en planktonische cyanobacteriën komen vaak niet gelijktijdig voor omdat ze in ander habitat voorkomen. Wanneer er veel planktonische fytoplankton is, bereikt maar een klein deel van het licht de bodem, waardoor bentische cyanobacteriën zich minder goed kunnen ontwikkelen. In spaarbekkens van Evides is het samen voorkomen van beide typen cyanobacteriën echter wel waargenomen.

Waar fytoplanktonische cyanobacteriën vooral problemen veroorzaken in eutrofe wateren, gedijen bentische cyanobacteriën juist in heldere meso- en oligotrofe wateren waar het licht kan doordringen tot de waterbodem (Wood et al., 2012; Quiblier et al., 2013). De nutriënten halen de cyanobacteriën uit de waterbodem, waar deze in hogere concentraties aanwezig zijn. Hiermee vormen deze bentische cyanobacteriën een tegengestelde – maar daarom niet minder relevante – bedreiging voor de kwaliteit van drinkwater uit spaarbekkens. Er bestaat geen consensus over de meest geschikte management strategieën om de risico's voor drinkwaterbereiding te beperken (Wood et al., 2020). Evides bestrijdt bentische cyanobacteriën al decennialang in het spaarbekken Petrusplaat met een boot met een eg om de bodem om te woelen en zo de groei te remmen (Ketelaars & Ebbeng, 1994). Ook wordt er 2-wekelijks gedoken om ze in kaart te brengen.

Bentische matten worden doorgaans gedomineerd door cyanobacteriën of diatomeeën, maar bevatten ook andere micro-organismen zoals heterotrofe bacteriën, foto-autotrofe algen en schimmels (Quiblier et al., 2013). Sommige

van deze foto-autotrofe algen zijn ook in staat om geur- en smaakstoffen te produceren, maar in de praktijk zijn in spaarbekkens cyanobacteriën de voornaamste producenten (Jüttner & Watson, 2007). Elk van deze organismen kan zich door de bentische mat bewegen om zich te positioneren naar optimale licht en nutriëntconcentraties (zogenaamde “gliding”; Lichtenberg et al., 2020). *Oscillatoria* en *Phormidia* zijn de twee geslachten die vaak dominant zijn in bentische matten en van diverse soorten *Oscillatoria* is bekend dat ze geosmine en 2-methylisoborneol (2-MIB) produceren (Izaguirre et al., 1982). Bentische cyanobacteriën kunnen ook diverse toxines produceren (Quiblier et al., 2013).

3.2 Cyanotoxines

Een verscheidenheid aan geslachten cyanobacteriën is in staat om cyanotoxines te produceren, waaronder de voornaamste planktonische geslachten in Nederland: *Microcystis*, *Dolichospermum* (voorheen bekend als *Anabaena*), *Planktothrix* en *Aphanizomenon* (Blaauboer & Hoogenboezem, 2008). Ook bentische geslachten, zoals *Oscillatoria*, kunnen soms toxines produceren (Quiblier et al., 2013). Vaak zijn verschillende soorten cyanobacteriën in staat meerdere soorten toxines te produceren (Cirés et al., 2017). Ook kan er een groot verschil zijn in de mate van toxineproductie binnen een soort (Rapala et al., 1997). De productie van cyanotoxines is meestal sterk gecorreleerd aan de groei van cyanobacteriën. Daarom is de toxineproductie hoog in de exponentiële fase van de groei (Merel et al., 2013).

Van nature komen cyanobacteriën in vrijwel alle waterlichamen voor, maar bepaalde omstandigheden kunnen de groei sterk bevorderen wat kan leiden tot een toxische bloei, waarbij vaak één soort dominant is (Mur et al., 1999). Het grootste deel van de cyanotoxines komt vrij wanneer cellen afsterven (Ross et al., 2006), maar ze kunnen ook worden uitgescheiden afhankelijk van omgevingsfactoren (Walls et al., 2018). De groeisnelheid van cyanobacteriën is niet hoger dan die van ander fytoplankton (Lüring et al., 2013), maar cyanobacteriën hebben competitieve voordelen (o.a. verticaal migreren, weerstand tegen begrazing) waardoor ze kunnen gaan domineren, wat kan resulteren in een toxische bloei. Indirect kan de globale temperatuurstijging ook invloed hebben op de groei van cyanobacteriën doordat ze kunnen profiteren van een versterkte stratificatie (Paerl & Huisman, 2009). Door hun drijfvermogen kunnen cyanobacteriën profiteren van de grote hoeveelheid licht en warmte in het epilimnion. Zeker als er ook genoeg nutriënten aanwezig zijn, biedt dit optimale condities voor een omvangrijke bloei.

Tot 2020 had de WHO slechts voor één cyanotoxine, microcystine-LR, een richtlijn opgesteld voor de maximaal aanvaardbare concentratie in drinkwater bij levenslange blootstelling (1 µg/L), omdat over de andere toxines onvoldoende wetenschappelijke literatuur bestond (WHO, 2017). De Europese drinkwaterrichtlijn voor microcystine-LR is ook 1 µg/L (EU, 2020), welke in later in 2022 omgezet wordt in een norm voor drinkwater in Nederland. Er zijn echter andere toxines die ook een reëel gevaar vormen (Ibelings et al., 2014) en waarvan gevallen bekend zijn dat ze verantwoordelijk zijn voor sterftegevallen bij dieren (Fastner et al., 2018; Harding & Codd, 1995). Ook is er nog weinig bekend over mogelijk synergistische effecten van de cyanotoxines (Metcalf & Codd, 2020). In 2020 heeft de WHO ook richtlijnen opgesteld voor anatoxine-a, saxitoxine en cylindrospermopsine in drinkwater van respectievelijk 30 µg/L, 3 µg/L en 3 µg/L bij levenslange blootstelling (Chorus & Welker, 2021). Bij kortdurende blootstelling aan microcystines van 3 µg/L raden ze voorlopig aan om jonge kinderen flessenwater te laten drinken. Hieronder volgt een opsomming van de cyanotoxines waarvoor een richtlijn bestaat voor de maximaal toelaatbare concentratie in drinkwater.

3.2.1 Microcystine

Microcystines zijn heptapeptides. Op het moment zijn er meer dan 240 verschillende microcystine varianten bekend (Meriluoto et al., 2017). Microcystine wordt geproduceerd door diverse geslachten cyanobacteriën, waaronder *Microcystis*, *Planktothrix* en *Anabaena* (Hisbergues et al., 2003). Meestal bevinden microcystines zich intracellulair waar ze zich kunnen binden aan eiwitten en deze kunnen beschermen tegen oxidatieve stress (Zilliges et al., 2011). Uit onderzoek blijkt dat er biodegradatie plaats kan vinden door bacteriën (Dziga et al., 2017). De

cyclische structuur van microcystine zorgt ervoor dat het molecuul slecht kan worden afgebroken door peptidases in het lichaam, wat ervoor zorgt dat dit toxine persistent is. Microcystine is een hepatotoxine, wat betekent dat leverschade kan optreden doordat microcystine schade toebrengt aan fosfatase PP1 en PP2a enzymen (Hisbergues et al., 2003). De meest voorkomende vorm is microcystine-LR, waar ook de WHO richtlijnen voor zijn opgesteld. Microcystine-LW en -LF zijn echter mogelijk toxischer dan microcystine-LR, waardoor ze ondanks lagere abundantie (10%) gemiddeld toch een hoge bijdrage (45%) kunnen leveren aan de totale toxiciteit van microcystines (Faassen & Lürling, 2013).

3.2.2 *Cylindrospermopsine*

Net zoals microcystine ontleent de toxine cylindrospermopsine haar naam aan de cyanobacterie waarin het voor het eerst ontdekt is, in dit geval *Cylindrospermopsis raciborskii* (Ohtani et al., 1992). Dit is echter niet de enige soort die het kan produceren. Andere cyanobacteriën kunnen ook cylindrospermopsines produceren, waaronder de planktonische soorten *Aphanizomenon* en *Dolichospermum (Anabaena)* (Preußel et al., 2006). Cylindrospermopsine is ook een hepatotoxine en is toxisch omdat het aan DNA kan binden en de eiwitsynthese kan remmen (Armah et al., 2013). Chiswell et al. (1999) toonde aan dat de halfwaardetijd van cylindrospermopsine in een praktijksituatie 11 tot 15 dagen is. Een extra aandachtspunt bij cylindrospermopsine is dat het ook in relatief grote hoeveelheden buiten de cel voorkomt en verwijdering van intacte cellen uit het water dus niet afdoende is (Metcalf et al., 2004).

3.2.3 *Neurotoxines*

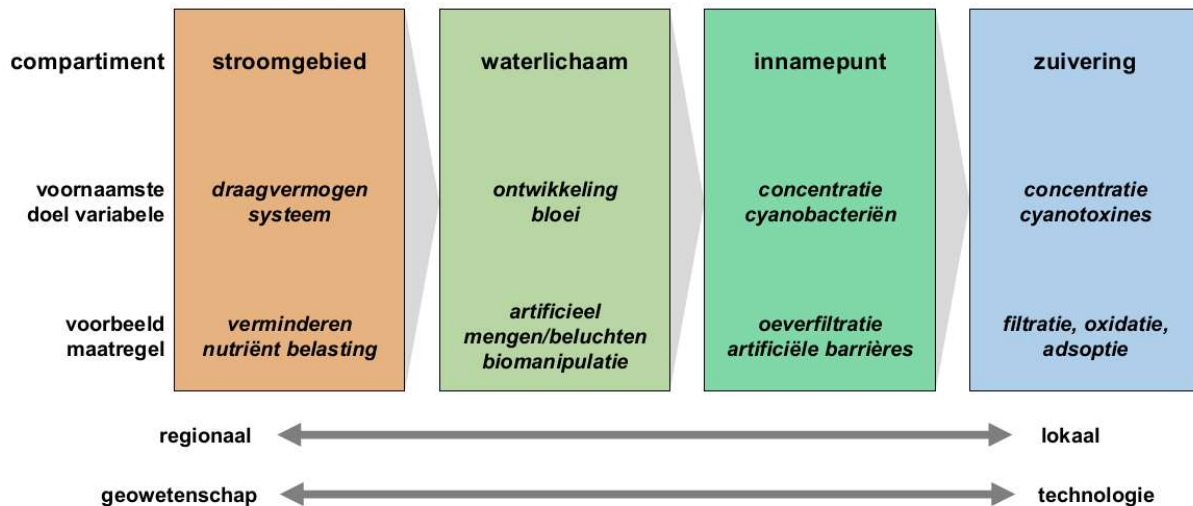
Er zijn een aantal cyanotoxines bekend die invloed hebben op het zenuwstelsel, onder ander anatoxine-a, saxitoxines en guanotoxines. Zowel guanotoxines als saxitoxines zijn neurotoxines die interfereren met receptoren van neurotransmitters waardoor het celmembraan gedepolariseerd wordt (Valério et al., 2010). Hierdoor kunnen natrium en calciumkanalen open blijven staan waardoor de neuronen niet meer kunnen opladen en geen signaal meer kunnen doorgeven. Ook anatoxine-a interfereert met de neuromusculaire transmissie door de binding aan acetylcholinesterase wat zorgt voor overstimulatie van het neuromusculaire signaal (Fiore et al., 2020). In tegenstelling tot saxitoxines die in waterlichamen een halfwaardetijd hebben van 9 tot 28 dagen, degraderen anatoxine-a en guanotoxines relatief snel (Trainer & Hardy, 2015). De afbraaksnelheid is echter wel sterk afhankelijk van omgevingsfactoren zoals pH, temperatuur en zonlicht. Anatoxine-a is erg gevoelig voor zonlicht. De halfwaardetijd hiervan is slechts enkele uren bij fel en direct zonlicht (Stevens & Krieger, 1991).

3.3 Ongewenste geur- en smaakstoffen

Geosmine en 2-MIB worden voornamelijk geproduceerd gedurende de late exponentiele groeifase (Zhang et al., 2009). Daarnaast kunnen deze geur- en smaakstoffen ook geproduceerd worden door actinomyceten (Xu et al., 2010). Geur- en smaakstoffen vormen geen direct gevaar voor gebruikers van drinkwater, maar geven het drinkwater een onaangename geur en smaak, wat vaak wordt omschreven als muff of gronderig. De halfwaardetijd van 2-MIB bij een temperatuur van 18 °C 35 dagen en de halfwaardetijd van geosmine is 20 dagen (Li et al., 2012). De stoffen geosmine en MIB kunnen door zowel bentische als planktonische cyanobacteriën worden geproduceerd. De meest voorkomende bentische cyanobacteriën zijn de geslachten *Oscillatoria* en *Phormidium*.

3.4 Voorkomen en bestrijden

De eerste stap in de risicobeperking van cyanobacteriële metabolieten in drinkwater is het verminderen en voorkomen van te hoge concentraties cyanobacteriën en metabolieten in het ruwe water en de spaarbekkens. Maatregelen hiertegen kunnen op verschillende schaalniveaus plaatsvinden, variërend van veranderingen in het stroomgebied tot aan de zuivering, en met behulp van verscheidene technieken gerealiseerd worden (Figuur 1; Chorus & Welker, 2021; Ibelings et al. 2014). Ook zijn er verschillen tussen het bestrijden van bentische en planktonische cyanobacteriën en kunnen de maatregelen complementair zijn of juist niet.



Figuur 1. Niveau en schaal van maatregelen voor het managen van cyanotoxines in oppervlaktewater. Aangepast van Chorus & Welker (2021).

3.4.1 Stroomgebied

De grootste schaal waarop maatregelen kunnen plaatsvinden is die van het stroomgebied. De meest basale controle op de groei van cyanobacteriën is het beperken van de nutriëntenstroom naar het waterlichaam, in het bijzonder voor fosfor (WHO, 2021). Omdat de concentratie nutriënten een belangrijke stimulans is voor de mate van aanwezigheid van cyanobacteriën, zijn de belangrijkste preventieve maatregelen hierop gefocust. Door het opstellen van doelstellingen van nutriënt-, cyanobacterie- en metabolietconcentraties kan er een plan worden gemaakt hoe deze doelstellingen te bereiken. Vervolgens kan men bronnen van nutriënten identificeren en kwantificeren.

3.4.2 Waterlichaam

Wanneer het niet mogelijk is om de hoeveelheid nutriëntbelasting te verminderen door aanpassingen in het stroomgebied, kunnen er in het spaarbekken zelf maatregelen worden getroffen. De groei van cyanobacteriën is afhankelijk van de lokale condities in het waterlichaam en daarom is het belangrijk om de waterkwaliteit en ecologische status te kennen (Stroom & Kardinaal, 2016). Natuurlijke controle op cyanobacteriële groei kan in combinatie met artificiële maatregelen het risico op (toxische) bloeivorming beperken. Hierbij kan management op het niveau van het waterlichaam ingezet worden. Dit kunnen hydromorfologische maatregelen zijn, maar ook nutriëntenreductie of voedselwebbeheer. Door defosfatering kunnen de P concentraties in het water verlaagd worden, wat kan leiden tot verlaagde risico's voor cyanobacteriële bloei en ontwikkeling van een diatomeeëngedomineerd systeem, zoals in het Braakman spaarbekken 1 van Evides sinds 2017 het geval is. Defosfatering wordt al door verschillende drinkwaterbedrijven (Evides, Dunea, WML) ingezet om bloei van cyanobacteriën in spaarbekken te voorkomen. Maar ook het artificieel mengen en/of beluchten van gestratificeerde wateren is een effectieve methode om nalevering van fosfaat en de groei van cyanobacteriën te beperken (Visser et al., 2016). Dit wordt toegepast bij spaarbekken van Evides (zie hoofdstuk 4), PWN en WML.

Ook zijn er mogelijkheden beschreven en toegepast om cyanobacteriën te bestrijden, zowel biologisch, chemisch en fysiek (Huisman et al., 2018). Zo kunnen bijvoorbeeld aanpassingen in het voedselweb gedaan worden (biomanipulatie), zoals het wegvangen van vissen, zodat de natuurlijke controle op cyanobacteriën door zoöplankton hersteld of versterkt wordt. Verder kunnen *Dreissena* mosselen in sommige gevallen de concentraties

cyanobacteriën in het water verlagen en hun bloei beperken. Echter, de effectiviteit en de bijkomstige effecten van zulke biologische aanpakken zijn vaak moeilijk te voorspellen, wat de bruikbaarheid van zulke methodes in spaarbekkens beperkt.

Chemische bestrijding van cyanobacteriën, zoals behandeling met kopersulfaat en diuron, of andere algiciden, zal er juist voor zorgen dat toxines vrijkomen en het probleem verergeren. Bovendien hebben deze stoffen als nadeel dat deze voor lange tijd in het water en sediment kunnen verblijven. Waterstofperoxide biedt een alternatieve chemische bestrijding, die effectief cyanobacteriën doodt en maar kortdurend in het water aanwezig blijft (Huisman et al., 2018). Ook het gebruik van geluidsenergie (ultrasound) om cyanobacteriële cellen te vernietigen, is geopperd als bestrijding van blauwalgenbloei (Rajasekhar et al., 2012), maar dit bleek niet te werken (Lürling & Tolman, 2014). Echter, alle vormen van chemische bestrijding dienen enkel als symptoombestrijding, omdat deze de onderliggende problematiek niet aanpakken. Daarnaast leiden al deze technieken tot het vrijkomen van grote hoeveelheden cyanotoxines door het openbarsten van de cellen, en kunnen deze behandelingen het lokale ecosysteem beschadigen door korte- en lange termijn effecten op non-target organismen (Lürling & Tolman, 2014; Huisman et al., 2018).

De omstandigheden die de groei van bentische cyanobacteriën bevorderen zijn zeer verschillend van die van planktonische cyanobacteriën. Voor de groei van bentische cyanobacteriën is het vereist dat het licht tot op de bodem komt. Ook is de nutriëntenconcentratie in de waterkolom minder een vereiste, omdat ze nutriënten uit de bodem kunnen opnemen. Deze omstandigheden worden juist gecreëerd door de hierboven genoemde maatregelen om groei van planktonische cyanobacteriën tegen te gaan.

Verstoring van de bodem door bioturbatie (o.a bodemwoelende vis) kan de groei van bentische matten remmen. Wanneer er weinig bioturbatie is, kan de bodem van het spaarbekken kunstmatig worden omgewoeld door middel van eggen op plaatsen en momenten dat er cyanobacteriën op de bodem worden waargenomen. Deze beheersmaatregel zorgt ervoor dat de concentraties geosmine en MIB in het ruwe water laag blijven.

3.4.3 Innamepunt

Ingrepen op het niveau van stroomgebied of waterlichaam (bekken) zijn niet altijd haalbaar. In die gevallen kunnen maatregelen ingezet worden op het niveau van de waterinname, door bijvoorbeeld het innamepunt te verplaatsen (zowel qua locatie als diepte), of door fysieke barrières in te zetten die de verspreiding van drijfvlagen van cyanobacteriën beperken. De positie van het innamepunt kan grote invloed hebben op de toxineconcentratie van het water dat naar de zuivering gaat. Ook kan oeverfiltratie ingezet worden als zeer effectieve methode om ruw water te zuiveren van cyanobacteriën en hun toxines, mits de fytoplankton dichtheden niet zo hoog zijn dat ze leiden tot verstoppingen (WHO, 2021; Chorus & Welker, 2021). Als deze maatregelen niet beschikbaar zijn, of niet effectief zijn in het verminderen van de risico's van cyanobacteriën en hun metabolieten in spaarbekkens, zijn maatregelen op het niveau van de zuivering noodzakelijk.

3.5 Zuiveren

Wanneer aanwezigheid van cyanobacteriën en –toxines en andere ongewenste metabolieten niet voorkomen kan worden, zal gerichte behandeling van het water plaats moeten vinden om het risico op menselijke blootstelling aan cyanotoxines en metabolieten te beperken (Figuur 1). Daarvoor is een zuivering in meerdere stappen (barrières) nodig om effectief cellen en metabolieten te verwijderen uit het ruwe water (Zamyadi et al., 2015; WHO, 2021). De meeste cyanotoxines zijn grotendeels cel gebonden (behalve cylindrospermopsin), dus voorbehandeling waarbij *intacte* cellen van het water gescheiden worden is het meest effectief voor de verwijdering van cyanobacteriën en de meeste toxines. Sterker nog, oxidatieve voorbehandelingen van water met bijvoorbeeld chloor of ozon kunnen door de afbraak en beschadiging van de cellen van cyanobacteriën leiden tot het vrijkomen van grote hoeveelheden cyanotoxines (Fan et al., 2016). Dit kan bijvoorbeeld ook een probleem vormen als oxidatie wordt

ingezet ter bestrijding van plagen zoals mossellarven. Deze leveren problemen op vanwege de aanhechting aan leidingen (Boon et al., 1994). Om hiervoor te compenseren zal een overschot aan behandeling ingezet moeten worden om de vrijgekomen cyanotoxines ook te oxideren (WHO, 2021). Dit is onwenselijk, en het heeft dan ook sterk de voorkeur om de cellen fysiek van het water te scheiden alvorens over te gaan op de verwijdering van opgeloste cyanotoxines en andere metabolieten. Deze scheiding van de cellen en het water kan plaatsvinden door middel van conventionele processen zoals coagulatie en zandfiltratie, of met membraanfiltratie technieken zoals micro- of ultrafiltratie, met een poriegrootte < 2 µm. Na de fysieke verwijdering van cellen kunnen de opgeloste cyanotoxines verwijderd worden met actieve kool en/of oxidatie (met ozon en/of chloor). Als er geen chemische oxidatie wordt toegepast is de verwijdering van opgeloste toxines afhankelijk van de toepassing van actieve kool, tenzij oxidatie door middel van bijvoorbeeld UV wordt toegepast. Hoewel UV bij lage toegepaste doses onvoldoende in staat bleek om zowel cyanobacteriën als cyanotoxines te kunnen omzetten tijdens drinkwaterbereiding (Vernooij *et al.*, 2011), laten meer recente bevindingen zien dat hoge doses UV (200 mJ/cm²), ook in afwezigheid van chemische oxidatie, wel effectief (~90%) microcystines uit water kunnen omzetten (Chintalapati & Mohseni, 2020). Desalniettemin verschilt de effectiviteit van alle toegepaste zuiveringstechnieken afhankelijk van het soort cyanobacteriën en andere waterkwaliteitsparameters, en de meest geschikte aanpak zal daarom per situatie beoordeeld moeten worden (WHO, 2021).

Aangezien ongewenste geur- en smaakstoffen voornamelijk worden geproduceerd door bentische cyanobacteriën, werkt de fysieke verwijdering van cellen door middel van coagulatie of filtratie niet voor de verwijdering van deze stoffen tijdens de drinkwaterbereiding. Net als cyanotoxines kunnen deze stoffen wel verwijderd worden met actieve kool en/of oxidatie in combinatie met UV behandeling, maar de effectiviteit van deze zuiveringsstappen is afhankelijk van variabelen als, onder andere, de pH, de toegediende doses, en de leeftijd van de actieve kool (Zamyadi et al., 2015; Wang et al., 2015).

De beschikbare literatuur is een waardevol startpunt voor de optimalisatie van drinkwaterzuivering voor cyanobacteriële toxines en geur- en smaakstoffen. Verder kan de effectiviteit van verschillende zuiveringsstappen worden gemeten onder lokale condities, vooral tijdens cyanobacteriële bloei.

3.6 Meten en monitoren

Er kunnen metingen worden gedaan bij het in gebruik nemen van nieuwe spaarbekkens of in het geval dat er cyanobacteriën worden gesignaleerd in bestaande spaarbekkens. Het uitvoeren van metingen heeft twee functies. Als eerste heeft het als doel om te controleren of dichtheden van cyanobacteriën en concentraties van toxines en geur- en smaakstoffen niet te hoog worden. Het meten van dichtheden cyanobacteriën is eenvoudiger dan het meten van cyanotoxines, en kan daarom gebruikt worden als indicatie voor toxineconcentraties. Daarnaast is het van belang om te kunnen achterhalen welke omgevingsfactoren van invloed zijn op de bloei en dominantie van cyanobacteriën. Ook kunnen metingen inzicht verschaffen in de effectiviteit van het huidige bekkenmanagement en de zuiveringstechnieken voor het risicomanagement van cyanobacteriën en hun metabolieten in spaarbekkens. Zowel metingen van de concentraties cyanobacteriën en –toxines zelf, de ongewenste geur- en smaakstoffen, als de variabelen die invloed hebben op de groei (nutriënten, temperatuur, etc.) zullen inzicht geven in de lokale risico's. Enerzijds kan dit gedaan worden op meerdere locaties, om de verschillen tussen de bestaande spaarbekkens in kaart te brengen en te begrijpen wat de effecten zijn van verschillen in bekkenmorfologie en –management. Anderzijds zou dit gemeten kunnen worden op een klein aantal locaties tijdens alle stappen van het drinkwaterproductieproces om inzicht te krijgen in de zuiveringsmethode die het meest effectief voor vermindering van risico's zorgt. Dit kan over langere periodes gedaan worden om inzicht te krijgen in de seizoen dynamiek en om er zeker van te zijn dat metingen worden verricht in de meeste kritieke periode voor cyanobacteriële bloei (zomer). Aanvullend zouden metingen uitgevoerd kunnen worden in een experimentele proefopzet waarin verschillende

scenario's gecontroleerd worden bestudeerd, of kunnen reinkweken van cyanobacteriële isolaten uit het veld doorgemeten worden.

Ongeacht welke van deze benaderingen wordt gekozen, zal een verscheidenheid aan metingen inzicht verschaffen in de risico's van cyanobacteriën en hun metabolieten en de processen die ze beïnvloeden. Om mee te gaan in de meest recente ontwikkelingen op dit gebied kunnen naast standaardmetingen ook nieuw beschikbare methoden ontwikkeld en uitgevoerd worden.

3.6.1 Toxines

De meest nauwkeurige manier om toxines te meten is door gebruik te maken van vloeistofchromatografie of gaschromatografie in combinatie met massaspectrometrie (LC/MS of GC/MS) (Bogialli et al., 2017). Zo kunnen de concentraties van anatoxine-a en analogen, cylindrospermopsines, microcystines en saxitoxines gemeten en vergeleken worden met de onlangs gepubliceerde WHO richtlijnen (WHO, 2020). Daarnaast is het ook belangrijk om het lot van de minder bekende cyanotoxines en andere metabolieten tijdens drinkwaterbereiding te monitoren, zoals bijvoorbeeld cyanopeptolines, anabaenopeptines en microginines (Beverdorf et al., 2018). Hierbij kan de selectie van cyanopeptiden uit Janssen (2019) gevolgd worden, waarna, zoals aangeraden in diezelfde publicatie, een prioritering van de meest relevante cyanobacteriële metabolieten voor monitoring in spaarbekkens kan worden opgesteld. Eventuele onbekende detecties kunnen opgezocht worden in de CyanoMetDB database, waarin meer dan 2000 cyanobacteriële secundaire metabolieten zijn opgenomen (Jones et al., 2021). De toxines microcystine-LR, microcystine-YR, Microcystine-RR, anatoxin-a, saxitoxine en cylindrospermopsine kunnen bij KWR geanalyseerd worden met een Orbitrap of LC-MS-MS. De WUR heeft een gevalideerde methode voor het meten van ANA, hANA, CYN, 7epiCYN, deoxyCYN, MC-LR, MC-RR, MC-LW, MC-LF, MC-YR, MC-LA, MC-LY, dmMC-RR, dmMC-LR, NOD, C1, C2, GTX1, GTX2, GTX3, GTX4, GTX5, dcGTX2, dcGTX3, STX, dcSTX, NEO, dcNEO (met LC-MS/MS).

Nadelen van chromatografische analysetechnieken zijn dat er standaarden nodig zijn van alle varianten. Ook worden eiwitgebonden microcystines niet gemeten bij een methanolextractie (Jüttner & Lüthi, 2008). In het verleden zijn alle metingen met HPLC voor drinkwaterbedrijven alleen gedaan met standaarden voor microcystine-LR en anatoxine-a, waardoor er dus geen meetgegevens zijn van andere toxines in spaarbekkens. Een alternatief is het gebruik van een Enzyme Linked Immune Sorbent Assay (ELISA), die o.a. aangeboden wordt door het AQUON laboratorium. Dit is een meetmethode die zeer toegankelijk is en waarmee binnen een aantal uren in het veld bepaald kan worden of er toxines aanwezig zijn in een spaarbekken. Volgens STOWA zijn de ELISA kits echter niet goedkoper in gebruik dan chromatografische analysetechnieken (Sollie et al., 2020). Ook de nauwkeurigheid van ELISA-kits wordt lager bevonden dan meetmethodes zoals LC/MS en GC/MS en bovendien geven ze geen onderscheid in verschillende toxinevarianten. Voor het meten van microcystines bestaat ook de *protein phosphatase (PPase) inhibition assay* (PPIA).

Daarnaast kan het sequencen van het genoom (met qPCR technieken) van uit spaarbekkens geïsoleerde cyanobacteriën inzicht verschaffen in de potentiële toxiciteit van de aanwezige soorten. Het bepalen van de hoeveelheid genetisch materiaal kan aangeven wat het potentieel is voor het produceren van secundaire metabolieten (Pinto et al., 2012). Echter, de aanwezigheid van potentieel toxische cyanobacteriën en cyanotoxinegenen is geen garantie dat er daadwerkelijk cyanotoxines en andere toxische cyanobacteriële metabolieten en geur- en smaakstoffen in het bekkenwater aanwezig zijn. Daarom heeft de toepassing van deze moleculaire technieken de meeste waarde in het sturen van daaropvolgende chemisch-analytische technieken, en niet als een op zichzelf staande aanpak voor het monitoren van de toxische risico's van cyanobacteriën voor drinkwaterproductie (WHO, 2021).

3.6.2 Bioassays

Ook kan het potentieel van bioassays in toxiciteitsdetectie van cyanotoxines worden verkend. Hoewel bioassays weinig specifieke informatie over de concentraties van individuele cyanotoxines opleveren, geven ze wel een integrale maat van de toxische potentie van cyanobacteriële monsters, zowel in waterextracten waarin cyanotoxines geïsoleerd zijn als in ruwe watermonsters (Bláha et al., 2017). Ook verschaffen ze inzicht in de totale toxiciteit van het water in de spaarbekkens, waarin de interactie van cyanotoxines met eventueel aanwezige andere toxische stoffen wordt meegenomen (Metcalf & Codd, 2020).

3.6.3 Geur- en smaakstoffen

Voor de detectie en identificatie van de (risico's op de) ongewenste geur- en smaakstoffen geosmine en MIB zijn zowel gaschromatografische (GC) analyses ontwikkeld voor de detectie van de stofconcentraties in water als moleculaire protocollen voor de identificatie van de *geoA* en MIB synthase genen die verantwoordelijk zijn voor de productie van deze stoffen (Suurnäkki et al., 2015). Naast deze twee meest onderzochte en meest voorkomende geur- en smaakstoffen zijn er nog andere die onderzocht kunnen worden zoals β -cyclocitral dimethyl-sulfide (DMS), dimethyl-disulfide (DMDS), dimethyl-trisulfide (DMTS) (Havaux, 2020; Ma et al., 2013). Geurdrempelconcentraties in drinkwater van β -cyclocitral, DMS en DMTS zijn respectievelijk 500-1000, 2000 en 10 ng/L (Ma et al. 2013). Deze stoffen zouden meegenomen kunnen worden in de metingen bij een innamepunt van drinkwater.

3.6.4 Dichtheden cyanobacteriën

Naast het meten van de concentraties van cyanobacteriële metabolieten en de toxiciteit van cyanotoxines is het met het oog op de benodigde zuivering nuttig om metingen van de dichtheden cyanobacteriën in de spaarbekkens te verrichten. Idealiter wordt dit gemeten met algensensoren die continu de dichtheden van algen en cyanobacteriën kunnen monitoren, zoals de PhycoProbe (BBE Moldaenke), Algae Online Analyzer (AOA; 4 groepen algen inclusief blauwalgen) of vergelijkbare apparatuur (Stauffer et al., 2019). Hierbij wordt het pigment fycocyanine gemeten. Fycocyanine is uniek voor cyanobacteriën en dit geeft een goede indicatie van de biomassa van cyanobacteriën. Bij het meten met deze sensoren na verschillende stappen in de zuivering kan microscopische validatie van de metingen uitsluitend bieden of de gemeten concentraties pigmenten eventueel afkomstig zijn van extracellulaire pigmenten na vrijkomen door het openbreken van cyanobacteriële cellen. Met microscopie kan tot op het niveau van geslacht worden bepaald met welke cyanobacteriën men te maken heeft. Deze methode vergt relatief veel menselijke arbeid en vereist specifieke kennis, waardoor het minder geschikt is als eerste indicatie voor de aanwezigheid van cyanobacteriën en mogelijke gevaren. Het is ook mogelijk om een schatting te maken van het biovolume van de cyanobacteriën. In de toekomst kunnen mogelijk ook drones ingezet worden om de verspreiding van fycocyanine (en daarmee cyanobacteriën) in tijd en ruimte te kunnen meten (Kwon et al., 2020).

3.6.5 Soorten cyanobacteriën

Naast dichtheden is het belangrijk om de identiteit van de aanwezige cyanobacteriën te monitoren, omdat dit inzicht geeft in de aanwezigheid van mogelijke toxine-producerende soorten. Ook dit kan microscopisch bepaald worden, maar moleculaire (DNA) technieken, zoals kwantitatieve polymerase kettingreacties (qPCR), bieden hier mogelijk uitkomst. Door voorbereiding van het monster kan genetisch materiaal gemeten worden dat intracellulair of juist extracellulair aanwezig is. Er bestaan verschillende qPCR methoden om cyanobacteriën of functionele genen voor de synthese van cyanotoxines aan te tonen en te kwantificeren (o.a. Wullings et al., 2009; Kardinaal et al., 2013; Wullings et al., 2014). Commerciële qPCR kits zijn beschikbaar die toxische cyanobacteriële soorten en cyanotoxine-genen kunnen meten, zoals de Phytoxigene™ CyanoDTec (<https://www.phytoxigene.com/>). Op het laboratorium van KWR zijn methodes ontwikkeld voor de kwantitatieve bepaling van de vijf meest voorkomende potentieel toxische cyanobacteriën (Wullings et al., 2014): *Microcystis*, *Planktrotrix*, *Anabaena* (heet nu:

Dolichospermum), *Aphanizomenon* en *Woronichinia*. Hierbij wordt er een DNA sequentie geselecteerd die voorkomt in alle soorten van het geslacht en ook uniek is voor het geslacht. Daarom is het alleen mogelijk om geslachten te meten die al bekend zijn. Eventueel nieuwe soorten worden niet gemeten. Het selecteren van de juiste sequenties die kenmerkend zijn voor de verschillende geslachten is ingewikkeld, omdat er veel verwantschap kan zijn tussen geslachten (bijvoorbeeld tussen *Dolichospermum* en *Aphanizomenon*) (Wullings & Kardinaal, 2009). Wanneer de juiste sequenties geselecteerd zijn, is het voordeel dat ze op grote schaal relatief snel toe te passen zijn ten opzichte van microscopische determinatie.

3.6.6 Chlorofyl

Chlorofyl-*a* is het pigment dat verschillende soorten fytoplankton gebruiken voor het fotosynthese. Chlorofyl-*a* pigment kan gemeten worden op verschillende manieren, waaronder spectrofotometrie en fluorescentie. Bij het gebruik van spectrofotometrie wordt licht van verschillende golflengtes door een monster gestuurd. De mate van transmissie van het licht met een golflengte van 665 nm geeft de mate van chlorofyl-*a* aan (Thermofisher, 2016). De transmissie van het licht van 750 nm wordt gebruikt om te corrigeren voor troebeling. Deze methode kan gebruikt worden voor het analyseren van monsters in het laboratorium. Ook zijn er meetinstrumenten beschikbaar op de markt waarmee chlorofyl-*a* wordt gemeten door fluorescentie. Het principe van fluorescentie is dat een lichtbron met bepaalde golflengtes door het water wordt gestuurd. Een deel van het licht wordt omgezet in energie en warmte. Een ander deel van de energie wordt weer uitgestraald in een specifieke maar langere golflengte dan de originele lichtbron. Door de hoeveelheid van dit licht te meten kan een inschatting worden gemaakt van de hoeveelheid chlorofyl-*a*. Een groot voordeel van deze methode is dat de probes in het veld kunnen worden gebruikt en ook automatische metingen kunnen uitvoeren.

3.6.7 Nutriënten

De aanwezigheid van nutriënten is een belangrijke regulator van de groei van fytoplankton. Vooral ammonium, nitraat en fosfaat zijn belangrijke nutriënten voor cyanobacteriën en ander fytoplankton om te groeien (Paerl & Fulton, 2006). Deze nutriënten kunnen daardoor een limiterende rol spelen bij de groei van cyanobacteriën in spaarbekkens. Van nitraat is bekend dat het in sommige gevallen, voornamelijk in het najaar, de limiterende factor kan zijn voor de groei van cyanobacteriën (Chaffin et al., 2013). Door het opstellen van streefwaardes en een beheersplan kan er geprobeerd worden om nutriëntconcentraties omlaag te krijgen om zo de groei en bloei van cyanobacteriën te beperken. Als het inkomende water echter al hoge concentraties fosfor en stikstof bevat, kan worden overwogen om te kijken of de inname van rivierwater in een spaarbekken tijdelijk stopgezet kan worden. Het is aan te raden om zowel bij de ingang van het spaarbekken, bij het innamepunt van drinkwater en op verschillende punten in het spaarbekken deze metingen uit te voeren.

Het meten van nutriënten wordt gedaan met spectrofotometers, waarbij licht van verschillende golflengtes door de oplossing wordt gestuurd. Aan de hand van het absorptiespectrum kan bepaald worden wat de concentratie van de nutriënten is. Dit kan handmatig, maar er bestaan ook spectrofotometers die de nutriëntconcentraties automatisch meten (AutoAnalyzers).

3.6.8 Gecombineerde probes en diepteprofielmetingen

Om het gemakkelijker te maken om metingen uit te voeren van verschillende parameters op gelijktijdige momenten en locaties kan er gebruik worden gemaakt van gecombineerde probes. Een voorbeeld hiervan is de YSI EXO 2 probe die onder meer gebruikt wordt in de spaarbekkens van Evides. In de EXO 2 probe zitten zes slots waarin sensoren kunnen worden geïnstalleerd naar wens. Opties zijn onder andere temperatuur, opgelost zuurstof, pH, turbiditeit, conductiviteit, chlorofyl-*a* en fycocyanine. Hiermee kan ook een beeld verkregen worden van de stratificatie in een spaarbekken.

3.7 Risicobeoordeling

Het is belangrijk om de risico's in spaarbekkens in kaart te brengen door het verzamelen van de bestaande kennis over de parameters die cyanobacteriële groei in de spaarbekkens beïnvloeden en die daarom mogelijk belangrijk zijn voor de monitoring van cyanobacteriën en –toxines. De meest relevante parameters voor een risicobeoordeling van cyanobacteriën en hun toxines in oppervlaktewater, zoals o.a. aangegeven door de WHO (WHO, 2021), zijn:

- Omringend landgebruik en potentiële bronnen van vervuiling (landbouw, RWZI, etc.)
- Morfologie
 - Oppervlakte
 - Diepte (gem. en max.)
 - Stratificatie
 - Verblijftijd
- Locatie en diepte van waterinnamepunt voor zuivering
- Heersende windrichting
- Dynamiek fytoplankton (dichtheid en taxonomie)
- Vóórkomen en timing van cyanobacteriële bloeien
- Indicaties van problemen met cyanobacteriën/-toxines
- Satellietbeelden met kwantificatie totaal fytoplankton (Chl-a) en cyanobacteriële (phycocyanine) biomassa (incl. ruimtelijke verdeling over tijd)
- Nutriëntconcentraties (vnl. totaal N en P) en de variatie daarvan over tijd
- Potentiële hoofdbronnen van nutriënten en bijbehorende verwachte of gemeten fluctuaties over tijd of plaats
- Doorzicht
- Zoöplanktonsamenstelling

De risicobeoordeling bij drinkwaterbedrijven is gebaseerd op een worst case benadering (Carpentier et al., 1999). Deze is later geactualiseerd door Vernooij et al. (2011), die hebben berekend wat de maximale theoretische toxineconcentratie is in het gezuiverde water, uitgaande van de hoogste dichtheden cyanobacteriën die gemeten werden per monsterlocatie en de minimale verwijderingscapaciteit in de zuivering. De uitkomsten werden vervolgens getoetst aan de WHO richtlijnen. De conclusie was dat cyanobacteriën en -toxines nauwelijks risico vormen voor de drinkwaterkwaliteit, al kan in sporadische gevallen de WHO-richtlijn overschreden worden. Deze is echter gebaseerd op levenslange blootstelling. Acute toxiciteit van microcystine is uitgesloten, omdat dit pas optreedt bij een 1800 keer hogere concentratie dan de WHO-richtlijn van 1 µg/L.

4 Data-analyse

Om een idee te geven wat het gebruik van bestaande meet- en monitoringsdata oplevert, zijn bestaande meerjarige datareeksen van twee spaarbekkens van Evides ingezet om inzicht te krijgen in de aanwezige cyanobacteriën en hun metabolieten in relatie tot andere parameters. Zowel data van de concentraties cyanobacteriën en –toxines zelf, de ongewenste geur- en smaakstoffen, als de fysisch-chemische variabelen die invloed hebben op de groei (nutriënten, temperatuur, etc.) geven inzicht in de lokale risico's, verbanden tussen gemeten variabelen en onderliggende processen. Verbanden tussen variabelen kunnen gebruikt worden om te bepalen welke parameters het beste gemeten kunnen worden voor een snelle en goedkopere risicoanalyse van cyanotoxines in spaarbekkens, maar ook welke mogelijke maatregelen getroffen kunnen worden om de concentraties cyanobacteriën en geur- en smaakstoffen te verminderen.

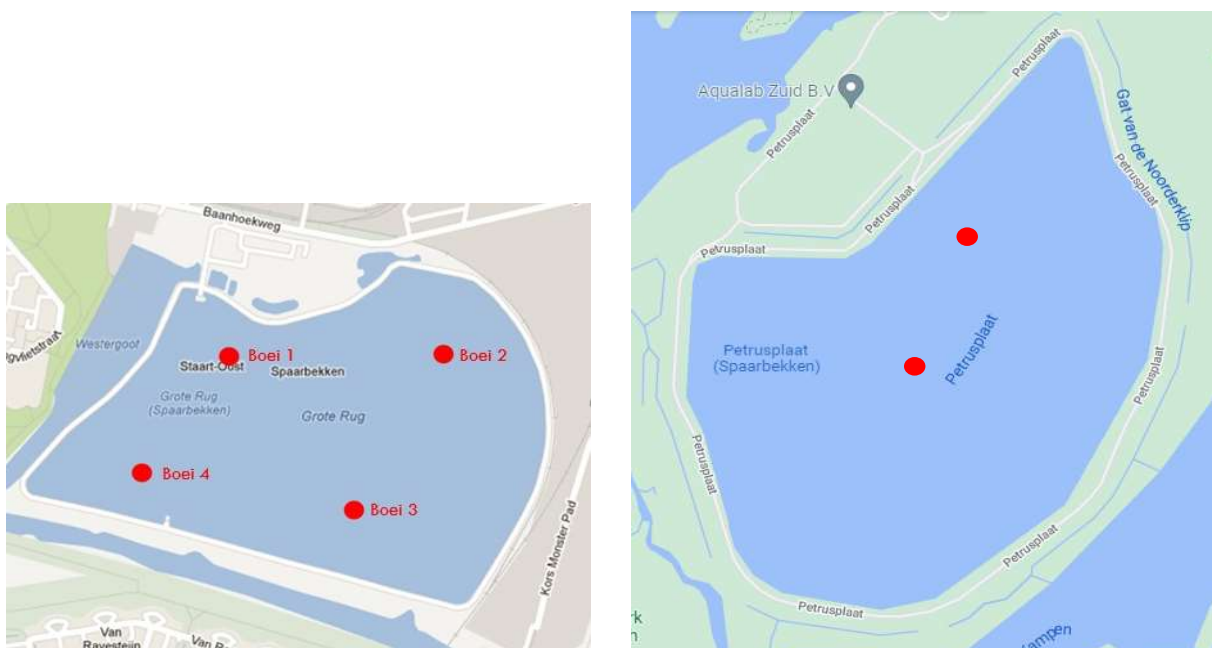
De data die gebruikt wordt, betreft voor het grootste deel langjarige meetreeksen vanaf 2013 van de spaarbekkens Grote Rug en Petrusplaat. De Grote Rug bij Dordrecht is een ondiepe plas (5 m) die vooral te kampen heeft met planktonische cyanobacteriën. De Petrusplaat in de Biesbosch is 14 m diep en juist heel helder, maar heeft daardoor juist problemen met bentische cyanobacteriën en geur- en smaakstoffen.

4.1 Methode

In de spaarbekkens van Evides worden de volgende relevante parameters gemonitord (tot 41 keer per jaar):

- fytoplankton en zoöplankton van mengmonsters over de diepte (dichtheden en determinatie)
- fyocyanine (metingen een EXO2 probe)
- nutriënten (Si, N, P)
- opgelost organisch koolstof (DOC) en troebelheid
- chlorofyl-a (labanalyse mengmonster)
- diepte en doorzicht
- geur- en smaakstoffen (geosmine en 2-methylisoborneol; frequentie verschilt per bekken)
- zuurstof en temperatuurprofielen over de diepte (stratificatie)

In De Grote Rug wordt bij vier boeien monsters genomen en in de Petrusplaat bij twee boeien (Figuur 2). Van deze monsters wordt per spaarbekken een mengmonster gemaakt dat geanalyseerd wordt en waarin ook het fytoplankton gedetermineerd wordt en het biovolume bepaald wordt. Ook worden in beide spaarbekkens temperatuur en zuurstof gemeten met een WTW-sensor vanaf het oppervlakte tot op de bodem met een interval van 1 meter. Dit wordt door Evides zelf gebruikt om een zuurstof- en temperatuurprofiel te maken om inzicht te geven in de stratificatie en het beheer van de spaarbekkens. Voor de eenvoud zijn deze parameters gemiddeld over de diepte.



Figuur 2. Monsternamenpunten in de spaarbekkens De Grote Rug (links) en Petrusplaat (rechts).

Naast het weergeven van het verloop door de jaren heen en een vergelijking tussen de verschillende meetjaren, is een Spearman's correlatie gebruikt om te kijken of omgevingsfactoren en geur- en smaakstoffen met elkaar

correleren. Hierbij is het belangrijk om te vermelden dat er vele biologische en chemische processen plaatsvinden in een aquatisch systeem en dat men daarom niet direct kan concluderen dat er een oorzakelijk verband is tussen de twee factoren.

4.2 Meetlocaties

De Grote Rug is een spaarbekken grenzend aan het zuiveringsstation Baanhoek. In dit spaarbekken vindt nauwelijks aanvoer van water plaats en het wordt op dit moment niet gebruikt voor de productie van drinkwater. Wel heeft dit spaarbekken de functie van noodbekken gehad. In De Grote Rug worden geen beheersmaatregelen toegepast om de bloei van cyanobacteriën tegen te gaan, wat leidt tot een systeem met veel fytoplankton. Ook vind er nalevering van fosfaten plaats. De Grote Rug heeft een maximale diepte van 5 meter.

Petrusplaat is de laatste van drie achtereenvolgende spaarbekkens (De Gijster, Honderd en Dertig en Petrusplaat) die gevoed worden met water uit de Maas. Deze serieschakeling van spaarbekkens zorgt voor zowel opslag als gedeeltelijke zuivering van het rivierwater door biologische en chemische activiteit, UV-licht en bezinking.

Spaarbekken Petrusplaat heeft een maximale diepte van 14 meter.

In de spaarbekkens in de Biesbosch vindt beluchting plaats. De beluchting heeft als doel de stratificatie tegen te gaan. Hierdoor wordt voorkomen dat er zuurstofloosheid optreedt in de onderste delen van het spaarbekken.

Zuurstofloosheid leidt ertoe dat er anaerobe processen plaatsvinden die nalevering van fosfaat en groei van fytoplankton stimuleren. Tevens wordt door de menging fytoplankton in de groei geremd en de fytoplanktonsamenvoering beïnvloed.

Brasems zorgen in de spaarbekkens De Gijster en Honderd en Dertig voor natuurlijke omwoeling van de bodem dat vermoedelijk de groei van bentische cyanobacteriën belemmert. Bentivore vis is in spaarbekken Petrusplaat veel minder aanwezig, waardoor deze woeling niet of nauwelijks plaatsvindt. Door het hoge doorzicht zijn de omstandigheden voor bentische cyanobacteriën tot een diepte van 9 meter van tijd tot tijd gunstig. De soorten die voornamelijk verantwoordelijk waren voor de productie van geosmine en 2-methylisoborneol in spaarbekken Petrusplaat in de jaren 80, waren de bentische soorten *Oscillatoria limosa* en *Oscillatoria splendida* (Van Breemen et al., 1992). *Oscillatoria limosa* produceert veel 2-methylisoborneol, maar geen geosmine, terwijl *Oscillatoria splendida* juist alleen geosmine produceert (Jüttner & Watson, 2007). In 2020 en 2021 wordt voornamelijk *Oscillatoria limosa* aangetroffen (twee fenotypes: zwart en groen), maar met name in de maanden juli t/m september ook diverse andere bentische cyanobacteriën die soms dominant zijn in bepaalde gebieden van het spaarbekken (pers. comm. G. Sandrini). Vermoedelijk zijn er dus andere bentische cyanobacteriën, zoals *Phormidium* soorten (Ebbeng, 2001) en *Geitlerinema splendidum* (naam voorheen: *Oscillatoria splendida*), die verantwoordelijk zijn voor de productie van geosmine. Daarnaast produceert de planktonische cyanobacterie *Aphanizomenon* vermoedelijk ook geosmine, maar geen 2-MIB (Ebbeng, 2001; Jüttner & Watson, 2007).

4.3 Resultaten en discussie

4.3.1 Omgevingsfactoren

De verschillen tussen De Grote Rug en Petrusplaat komen ook tot uiting in de gegevens van de dataset (Tabel 1). De mediane concentratie fosfaat is hoger in De Grote Rug (0.072 mg/L P) dan in Petrusplaat (0.041 mg/L P). In De Grote Rug treedt sporadisch zuurstofloosheid op, wat zorgt voor nalevering van fosfaat uit de bodem (Van Asperen, 2015). De zuurstofloosheid zorgt ook voor denitrificatie door bacteriën die anaerobe omstandigheden prefereren (Zumft, 1997). Dit is ook te zien aan de totaal stikstofconcentraties in de spaarbekkens, die veel lager is in De Grote Rug (net als de N:P ratio). De grote hoeveelheid fosfaat die vrijkomt, stimuleert de groei van fytoplankton in De Grote Rug, wat leidt tot een mediane concentratie van 14,1 µg/L chlorofyl-*a*, hogere biovolumes aan fyto- en

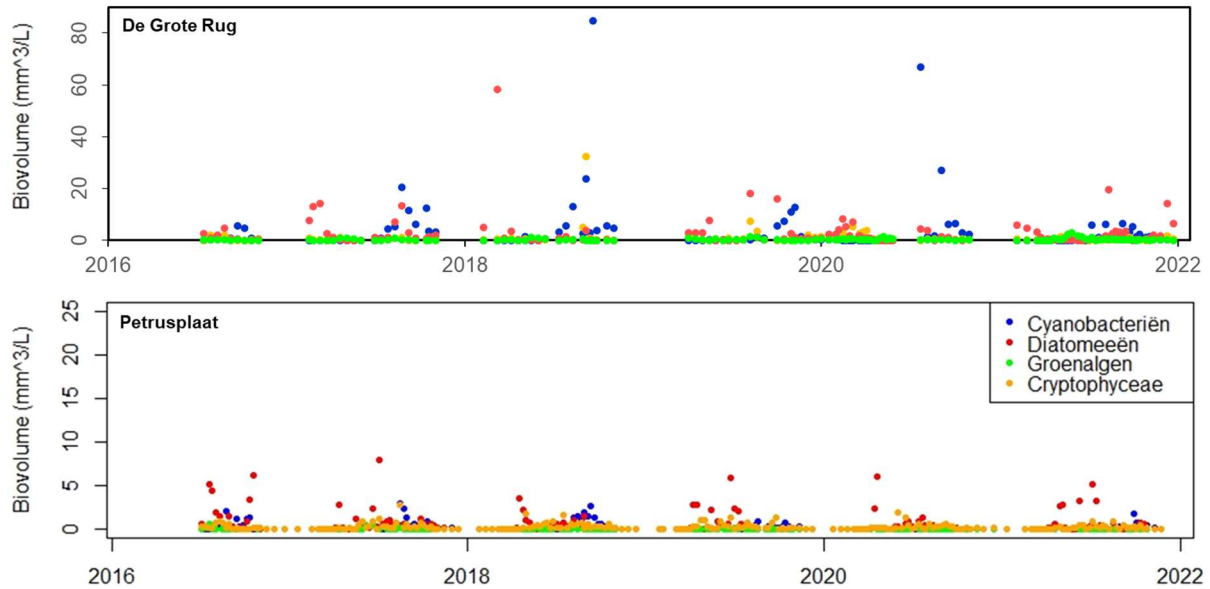
zoöplankton en een hoge troebelheid van 2,9. De verschillen in de mediane concentratie geosmine en MIB zijn niet groot; geosmine is iets hoger in De Grote Rug en MIB is iets hoger in Petrusplaat.

Tabel 1. Vergelijking van mediane waarden van gemeten omgevingsfactoren in De Grote Rug en Petrusplaat in de periode van 2013-2021. Voor temperatuur is het gemiddelde van metingen op verschillende dieptes gebruikt.

Parameter	Grote Rug			Petrusplaat		
	1 ^{ste} kwartiel	Mediaan	3 ^{de} kwartiel	1 ^{ste} kwartiel	Mediaan	3 ^{de} kwartiel
Geosmine (ng/L)	1,3	2,1	4,2	1,4	1,9	3,0
MIB (ng/L)	1,1	2,2	5,1	1,3	2,8	5,2
Chlorofyl- <i>a</i> (µg/L)	5,6	14,1	26,0	1,1	2,5	6,0
Cyanobacteriën (mm ³ /L)	0,003	0,274	2,824	0,000	0,007	0,159
Cryptophyceae (mm ³ /L)	0,116	0,339	0,822	0,061	0,170	0,353
Diatomeeën (mm ³ /L)	0,103	0,686	2,685	0,026	0,146	0,555
Groenalgen (mm ³ /L)	0,030	0,097	0,331	0,000	0,004	0,016
Zoöplankton (mm ³ /L)	661	1560	2480	23	79	197
Temperatuur (°C)	6,4	10,1	18,1	7,0	12,3	18,6
Totaal stikstof (mg/L N)	0,04	0,06	0,12	1,9	2,4	2,7
Totaal fosfaat (mg/L P)	0,037	0,072	0,145	0,028	0,041	0,056
N:P ratio (g/g)	0,67	1,76	4,56	43	55	79
Troebelheid (FNU)	1,8	2,9	5,1	0,4	0,8	1,4

4.3.2 Fytoplanktonische biomassa

In Figuur 3 is de biomassa weergegeven van cyanobacteriën, diatomeeën, groenalgen en Cryptophyceae van juli 2016 tot december 2021. Hierin is te zien dat er in De Grote Rug veel hogere biovolumes gemeten worden dan in Petrusplaat. In Petrusplaat zijn geen biovolumes van cyanobacteriën gemeten hoger dan 5 mm³/L, terwijl de biovolumes in De Grote Rug boven de 20 mm³/L piekten in de zomermaanden. In Petrusplaat zijn de diatomeeën vaak de dominante groep fytoplankton. In beide spaarbekkens zijn Cryptophyceae en groenalgen meestal de minder dominante groep.



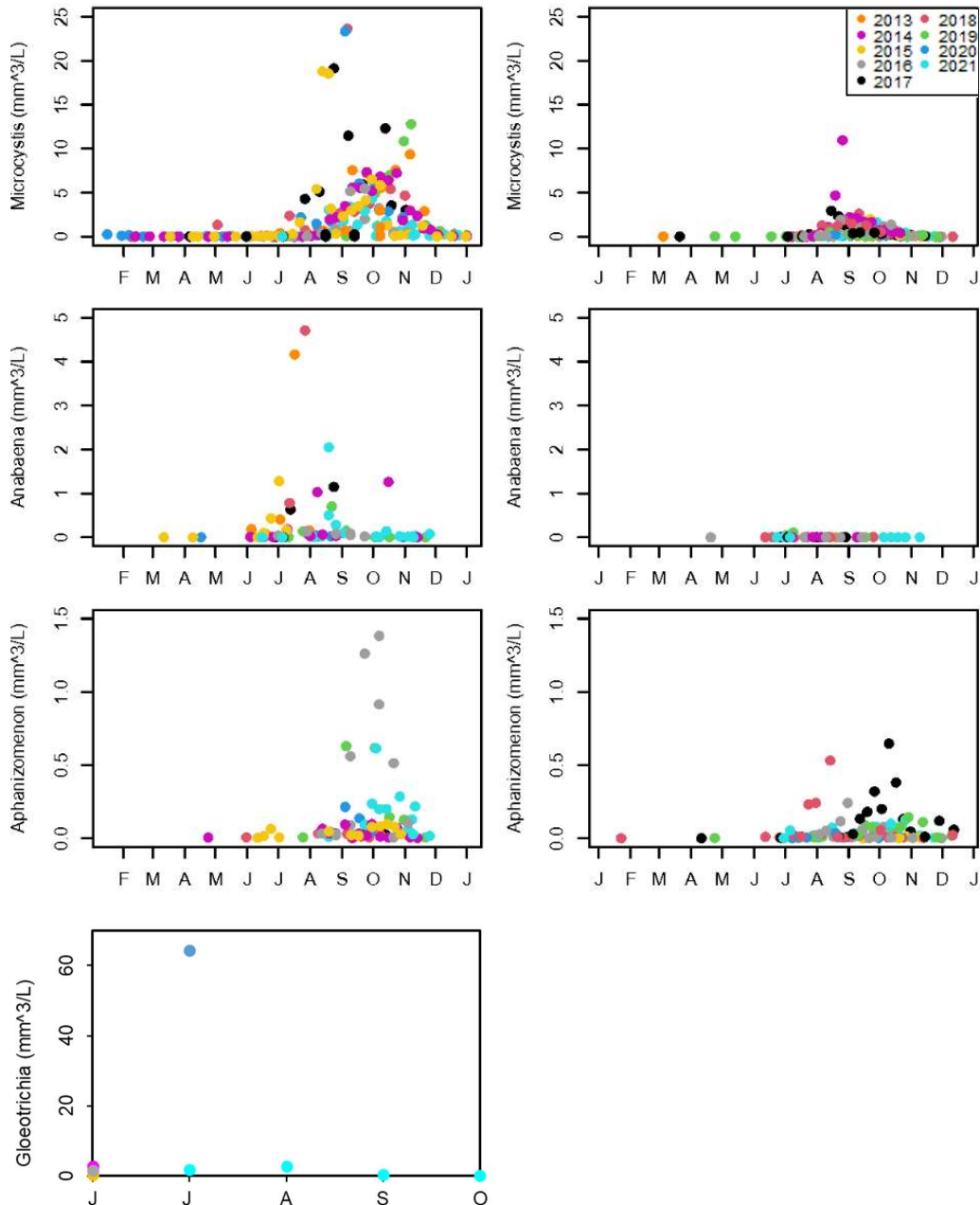
Figuur 3. De biovolumes (mm³/L) van cyanobacteriën (blauw), diatomeeën (rood), groenalgen (groen) en Cryptophyceae (oranje) geplot van juli 2016 tot december 2021 voor De Grote Rug (boven; as tot 90 mm³/L) en Petrusplaat (onder; as tot 25 mm³/L).

4.3.3 Cyanobacteriën en geur- en smaakstoffen

In beide spaarbekken waren de voornaamste geslachten cyanobacteriën *Microcystis*, *Dolichospermum*, *Gloeotrichia* en *Aphanizomenon*. Daarnaast zijn in beide spaarbekken ook nog *Planktothrix*, *Chroococcales*, *Aphanocapsa*, *Aphanothece* en *Hormogonales* aangetroffen. *Microcystis* was meestal het dominante geslacht in beide spaarbekken en de hoogste concentraties werden in het latere deel van de zomer gemeten. Ook uit de grafieken in figuur 4 wordt duidelijk dat de biomassa van cyanobacteriën in De Grote Rug hoger is dan die in Petrusplaat. *Microcystis* komt ook in november nog voor bij De Grote Rug, in tegenstelling tot Petrusplaat. Vooral *Microcystis* kan hoge concentraties bereiken aan het einde van de zomer. In De Grote Rug is *Microcystis* verreweg de dominante soort fytoplankton in het spaarbekken.

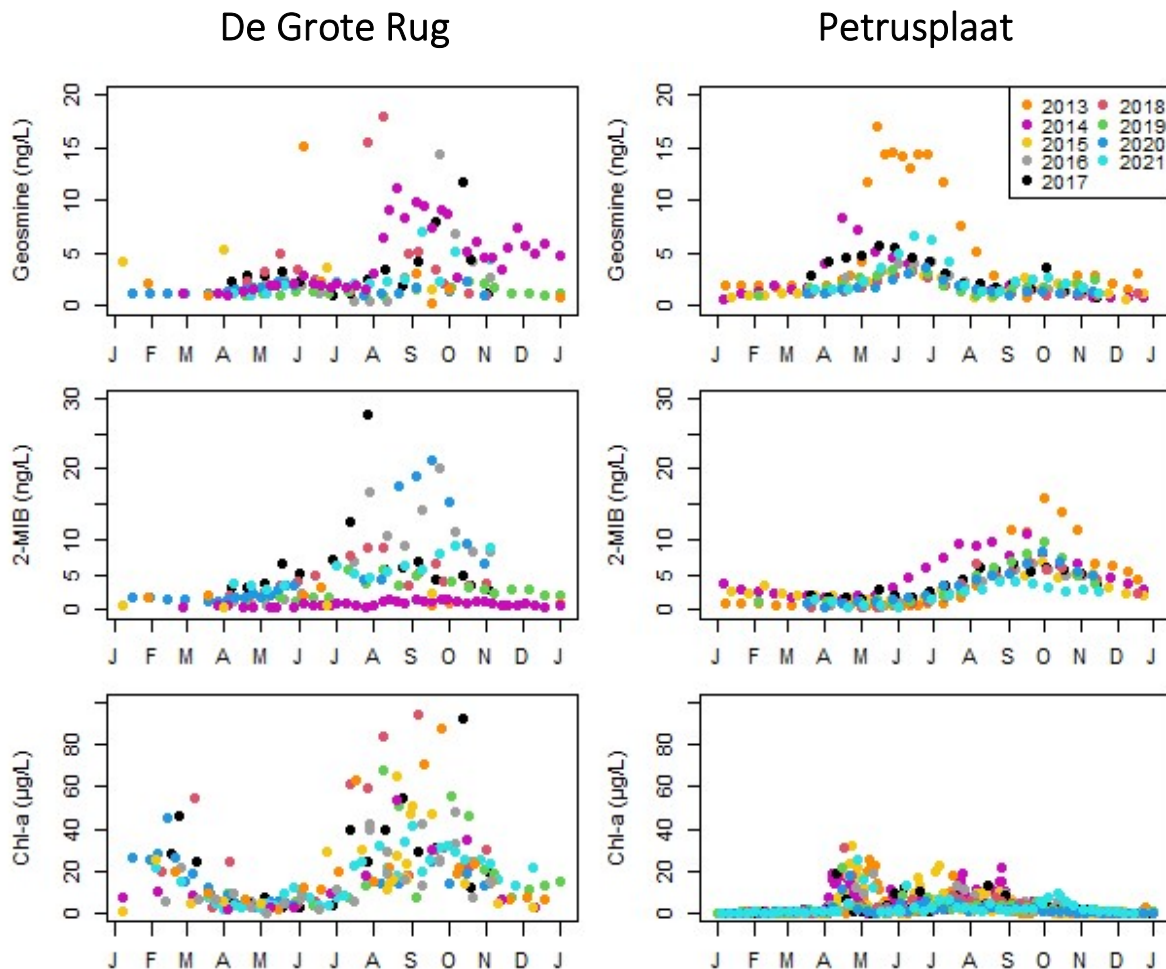
De grote rug

Petrusplaat



Figuur 4. Biovolumes van *Microcystis* (boven), *Anabaena/Dolichospermum* (midden), *Aphanizomenon* (onder) en *Gloeotrichia* (helemaal onder; alleen in De Grote Rug) geplot over de tijd. Voor de jaren 2013 t/m 2021 zijn de concentraties geplot gedurende het jaar, zodat het seizoenspatroon zichtbaar wordt van De Grote Rug (links) en Petrusplaat (rechts). De verschillende jaren zijn aangegeven met verschillende kleuren.

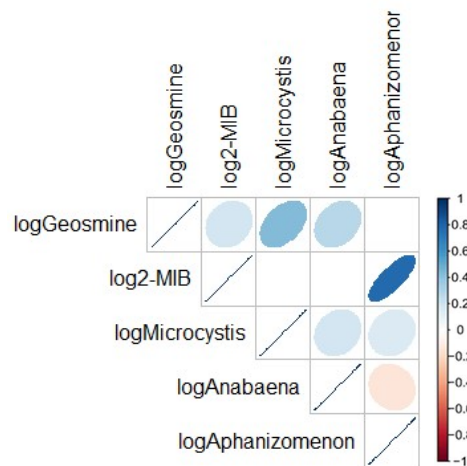
Daarnaast is er ook gekeken of er een verklaring kon worden gevonden voor de aanwezigheid van hoge concentraties geur- en smaakstoffen (geosmine en 2-MIB). In Figuur 5 is de data van een aantal parameters geplotted door het jaar heen voor de jaren 2014 tot en met 2021. In De Grote Rug in de jaren t/m 2015 is voornamelijk gemeten bij de uitlaat, daarna bij boeien. Dit is samengenomen in figuur 5.



Figuur 1. De concentraties van geosmine, MIB en chlorofyl-a geplotted over de tijd. Voor de jaren 2013 t/m 2021 zijn de concentraties geplotted gedurende het jaar zodat het seizoenpatroon van deze stoffen zichtbaar wordt van De Grote Rug (links) en Petrusplaat (rechts). De verschillende jaren zijn aangegeven met verschillende kleuren.

In het geval van Petrusplaat is er voor gekozen om alleen de gegevens bij de uitlaat te laten zien. Dit omdat de geosmine en MIB concentraties alleen zijn gemeten bij de uitlaat. Daarnaast waren er geen grote verschillen waarneembaar tussen de metingen van de andere parameters bij de boeien en bij de uitlaat van Petrusplaat. In beide spaarbekkens worden concentraties van geosmine en MIB gemeten die boven de waarnemingsdrempel voor reuk en smaak uitkomen (Bristow et al., 2019). Er zijn echter wel grote verschillen in het seizoenpatroon te zien die duiden op een verschil in bron. In Petrusplaat worden de hoogste geosmineconcentraties gemeten in juli en de hoogste MIB-concentraties in september en oktober. In De Grote Rug is er meer fluctuatie in geur- en smaakstofconcentraties te zien. Mogelijk is dit het gevolg van een verschillende bron van geosmine en MIB. Geosmine en MIB zijn in De Grote Rug het hoogst in september en oktober. In deze periode zijn ook de planktonische cyanobacteriën het hoogst die mogelijk de bron zijn van deze geur- en smaakstoffen.

Van de vier meest voorkomende soorten planktonische cyanobacteriën is bekend dat *Microcystis* en *Gloeotrichia* geen producent zijn van geosmine (Van der Ploeg et al., 1992). *Dolichospermum* staat wel bekend als een bron van geosmine (Kutovaya & Watson, 2014) en is in De Grote Rug waarschijnlijk ook de voornaamste bron, al is niet bekend of er ook bentische cyanobacteriën aanwezig zijn in De Grote Rug. Opvallend is dat de correlatie tussen geosmine en *Microcystis* sterker is dan de correlatie tussen geosmine en *Dolichospermum* (Figuur 6). Aan de hand van deze data is dat niet te verklaren. Verder valt op dat de correlatie tussen 2-MIB en *Aphanizomenon* sterk is (Figuur 6). Van *Aphanizomenon* is bekend dat het een producent is van 2-MIB (Wu et al., 2022). Naast *Aphanizomenon* is ook *Planktothrix* een 2-MIB producerend geslacht dat aanwezig is in De Grote Rug. Daardoor kan niet bevestigd worden dat 2-MIB uitsluitend geproduceerd wordt door *Aphanizomenon*. Ook Actinomyceten spelen mogelijk een rol hierin.



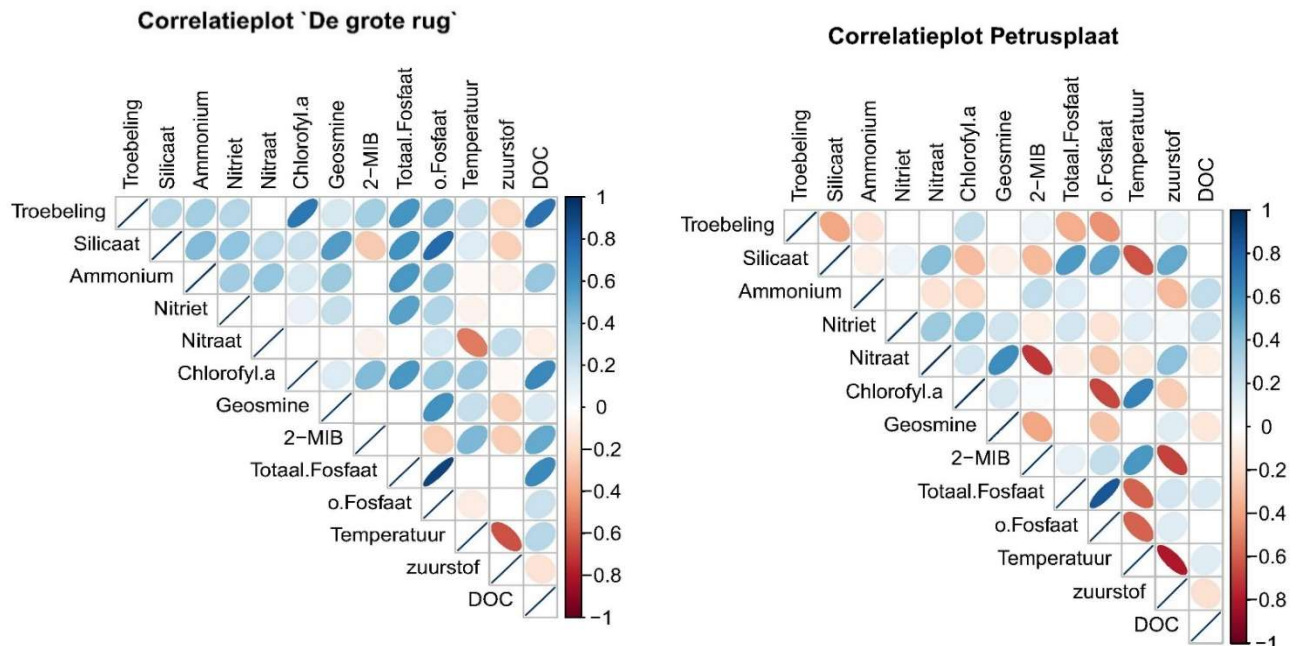
Figuur 6. De correlaties tussen de drie voornaamste planktonische fytoplanktonsoorten en geosmine en 2-MIB in De Grote Rug. De waarden zijn logaritmisch getransformeerd om ze normaal verdeel te krijgen. Zowel met de intensiteit van de kleur als met de vorm van de ellipsen wordt de sterkte van de correlatie weergegeven. Een positieve correlatie wordt met blauw weergegeven en een negatieve correlatie wordt met rood weergegeven. Alleen correlaties met een P-waarde <0,05 zijn weergegeven.

In Petrusplaat is de geosmineconcentratie vooral in het begin van de zomer het hoogst, wanneer de watertemperatuur nog wat lager is. Van bentische soorten is bekend dat de optimale groeitemperatuur lager ligt dan die van fytoplanktonische soorten, wat wijst op geosmineproductie door *Oscillatoria*. Petrusplaat bevat over het algemeen weinig cyanobacteriën, maar de bodem is wel voor een groter deel bedekt met bentische cyanobacteriën. In de Grote Rug is dit precies andersom. De verhoogde concentratie van 2-MIB in Petrusplaat in de zomer kan ook het gevolg zijn van productie van 2-MIB in de Maas of in de bovenstrooms liggende spaarbekkens, want 2-MIB is relatief recalcitrant en breekt langzaam af (5 dagen tot meer dan 2 weken; Izaguirre et al., 1988).

4.3.4 Correlaties tussen parameters

In figuur 7 zijn voor De Grote Rug en Petrusplaat de correlaties weergegeven tussen de omgevingsfactoren. De temperatuur van het water bevordert in algemene zin de metabole processen. Ook de genexpressie en metabole routes van MIB worden direct gestimuleerd door een verhoogde temperatuur (Kakimoto et al., 2014). Dit is ook

wat in De Grote Rug en in Petrusplaat te zien is aan de redelijk sterke correlaties tussen MIB en temperatuur. Geosmine laat geen correlatie zien met temperatuur. Mogelijk komt dit doordat geosmine voornamelijk geproduceerd wordt door (bentische) soorten die een optimale geosmineproductie hebben bij een temperatuur die lager ligt dan de maximale watertemperatuur.



Figuur 7. Correlaties tussen de verschillende omgevingsfactoren die gemeten zijn in de spaarbekkens De Grote Rug en Petrusplaat. Zowel met de intensiteit van de kleur als met de vorm van de ellipsen wordt de sterkte van de correlatie weergegeven. Een positieve correlatie wordt met blauw weergegeven en een negatieve correlatie wordt met rood weergegeven. Alleen correlaties met een P-waarde <0,05 zijn weergegeven. Voor temperatuur en zuurstof is het gemiddelde van metingen op verschillende dieptes gebruikt.

In De Grote Rug is er een licht positieve correlatie van chlorofyl-*a* met de concentratie geosmine en MIB. Het fytoplankton (dat chlorofyl-*a* bevat) bestaat maar voor een gedeelte uit cyanobacteriën, waarvan niet alle geslachten in staat zijn om geur- en smaakstoffen te produceren. In Petrusplaat weten we dat de productie van geur- en smaakstoffen afstamt van de bentische cyanobacteriën in het spaarbekken. Dit verklaart de zwakke/afwezige correlatie tussen chlorofyl-*a* en de geur- en smaakstoffen in dit spaarbekken. Onderzoek door Oh et al. (2017) laat zien dat een hoge nitraatconcentratie zorgt voor een hoge celdichtheid en geosmineconcentratie in cyanobacteriën. In een experiment van Saadoun et al. (2001) kwam naar voren dat *Dolichospermum* meer geosmine produceert bij een verhoogde nitraatconcentratie. In Petrusplaat lijkt de correlatie van nitraat en geosmine ook opvallend sterk positief. De correlaties met andere stikstofbronnen waren in beide spaarbekkens zwak positief of afwezig. Volgens Perkins et al. (2019) stimuleert ammonium de geosmine- en MIB-concentraties in het Plas Uchaf spaarbekken in Noord-Wales met *Dolichospermum* en *Oscillatoria*. In De Grote Rug is geosmine het sterkst positief gecorreleerd met de concentratie ortho-fosfaat. Ook anderen hebben gevonden dat fosfaat de productie van geosmine kan stimuleren (Oh et al., 2017; Saadoun et al., 2001) Er is dus geen eenduidige relatie tussen omgevingsfactoren en geur- en smaakstofproductie, voornamelijk doordat het effect sterk kan verschillen tussen soorten/geslachten van cyanobacteriën (Oh et al., 2017). Naast de effecten die omgevingsfactoren hebben op de productie van secundaire metabolieten per cel, heeft de biomassa en groei van de cyanobacteriën een grote invloed op de concentratie secundaire metabolieten

(Robertson et al., 2006). Daarom is het beperken van de groei van grote hoeveelheden bentische en planktonische cyanobacteriën essentieel.

5 Conclusies en aanbevelingen

Toxines en geur- en smaakstoffen, secundaire metabolieten van cyanobacteriën, kunnen tot problemen leiden bij de productie van drinkwater. Voor vier toxines heeft de WHO een richtlijn voor drinkwater opgesteld. Voor microcystine-LR is een nieuwe Europese drinkwaterrichtlijn opgesteld. Om hieraan te voldoen, kan het nodig zijn om de hoeveelheid cyanobacteriën te reduceren. Dit kan door maatregelen op verschillende schaalniveaus: stroomgebied, waterlichaam, innamepunt en zuivering.

Bij bestaande en nieuwe spaarbekkens is het aan te bevelen om een jaarlijks terugkerend meetprogramma op te zetten om de ontwikkeling van omgevingsfactoren, cyanobacteriën, toxines en geur- en smaakstoffen in de tijd te kunnen volgen. Metingen hebben als doel om te controleren of dichtheden van cyanobacteriën en/of concentraties van toxines en geur- en smaakstoffen niet te hoog worden en om te achterhalen welke omgevingsfactoren (nutriënten, temperatuur, etc.) hierbij een rol spelen. Dit is van belang om de risico's in kaart te brengen en hierop te handelen door inzet van passende maatregelen op het juiste schaalniveau. Pas als er een potentieel probleem is, dienen verdere acties uitgezet te worden. Als er niets gemeten wordt, kom je voor verrassingen te staan.

Het meten van dichtheden cyanobacteriën is eenvoudiger dan het meten van cyanotoxines en geur- en smaakstoffen, waardoor dichtheden gebruikt kunnen worden als indicatie voor secundaire metabolieten. Er kunnen metingen worden gedaan bij het in gebruik nemen van nieuwe spaarbekkens of in het geval dat er cyanobacteriën worden gesignaleerd in bestaande spaarbekkens. Metingen verschaffen ook inzicht in de effectiviteit van het huidige bekkenmanagement en de zuiveringstechnieken voor het risicomanagement van cyanobacteriën en hun metabolieten in spaarbekkens.

Dit is geïllustreerd aan de hand van een data-analyse met langjarige meetgegevens van twee spaarbekkens van Evides met verschillend beheer en functie: Petrusplaat (diep, helder, met beluchting) en De Grote Rug (ondiep, troebel, zonder beluchting). Een vergelijking van de biovolumes aan cyanobacteriën, concentraties geur- en smaakstoffen en omgevingsfactoren leverde interessante inzichten op. Er waren grote verschillen in het jaarlijkse patroon van geur- en smaakstoffen, maar geen grote verschillen tussen de spaarbekkens. In De Grote Rug zijn planktonische cyanobacteriën de voornaamste producenten van geur- en smaakstoffen, welke ook gecorreleerd blijken te zijn aan de gemeten chlorofylconcentratie. In Petrusplaat zijn bentische cyanobacteriën verantwoordelijk voor de productie van geur- en smaakstoffen. Dit betekent dat beluchting en het creëren van een heldere waterkolom niet afdoende is om de groei van bentische cyanobacteriën en de vorming van secundaire metabolieten te voorkomen. Qua omgevingsfactoren blijkt temperatuur het meest gecorreleerd te zijn met de productie van 2-methylisoborneol, terwijl nutriënten (fosfaat in De Grote Rug en nitraat in Petrusplaat) het meest gecorreleerd zijn met de productie van geosmine.

Planktonische cyanobacteriën kunnen geïdentificeerd en gekwantificeerd worden in een mengmonster van water op verschillende dieptes. Voor het in kaart brengen van bentische cyanobacteriën moet er worden gedoken. Het wordt aanbevolen om ook toxines te meten, om het risico op overschrijding van de WHO-richtlijnen te bepalen.

Meettechnieken om deze toxines te meten hebben allemaal hun eigen voor- en nadelen, maar chromatografische analysetechnieken (LC/MS en GC/MS) zijn nauwkeuriger en niet per se duurder dan snelle screeningsmethoden (zoals ELISA) en de meer indirecte qPCR technieken.

De concentratie van toxines en geur- en smaakstoffen wordt voor een groot deel bepaald door de biomassa en groei van cyanobacteriën. Daarom is het beperken van de groei van grote hoeveelheden bentische en/of planktonische cyanobacteriën essentieel. De omstandigheden die de groei van bentische cyanobacteriën bevorderen zijn zeer verschillend van die van planktonische cyanobacteriën. Mogelijke maatregelen dienen dus afgestemd te worden op het type cyanobacteriën dat voorkomt in een spaarbekken. Beluchting is een belangrijke maatregel om de groei van planktonische cyanobacteriën tegen te gaan, terwijl de groei van bentische matten geremd kan worden door de bodem om te woelen. In beide gevallen is het verlagen van de nutriëntenbelasting een belangrijke maatregel om algenbloei tegen te gaan en daarmee ook de concentraties secundaire metabolieten in het water laag te houden.

Referenties

- Armah, A., Hiskia, A., Kaloudis, T., Chernoff, N., Hill, D., Antoniou, M. G., He, X., Loftin, K., O'Shea, K., & Zhao, C. (2013). A review on cylindrospermopsin: the global occurrence, detection, toxicity and degradation of a potent cyanotoxin. *Environmental Science: Processes & Impacts*, 15(11), 1979-2003.
- Beversdorf, L. J., Rude, K., Weirich, C. A., Bartlett, S. L., Seaman, M., Kozik, C., Biese, P., Gosz, T., Suha, M., Stempa, C., Shaw, C., Hedman, C., Piatt, J. J., & Miller, T. R. (2018). Analysis of cyanobacterial metabolites in surface and raw drinking waters reveals more than microcystin. *Water Research*, 140, 280–290.
<https://doi.org/10.1016/j.watres.2018.04.032>
- Blaauboer, K., & Hoogenboezem, W. (2008). Cyanotoxinen en de bereiding van drinkwater. Het Waterlaboratorium.
- Bláha, L., Cameán, A. M., Fessard, V., Gutiérrez-Praena, D., Jos, Á., Marie, B., Metcalf, J. S., Pichardo, S., Puerto, M., Törökné, A., Vasas, G., & Žegura, B. (2017). Bioassay Use in the Field of Toxic Cyanobacteria. In *Handbook of Cyanobacterial Monitoring and Cyanotoxin Analysis* (pp. 272–279). John Wiley & Sons, Ltd.
<https://doi.org/10.1002/9781119068761.ch27>
- Bogialli, S., Bortolini, C., Di Gangi, I. M., Di Gregorio, F. N., Lucentini, L., Favaro, G., & Pastore, P. (2017). Liquid chromatography-high resolution mass spectrometric methods for the surveillance monitoring of cyanotoxins in freshwaters. *Talanta*, 170, 322-330. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.talanta.2017.04.033>
- Boon, P. I., Bunn, S. E., Green, J. D., & Shiel, R. J. (1994). Consumption of cyanobacteria by freshwater zooplankton: Implications for the success of 'top-down' control of cyanobacterial blooms in Australia. *Marine and Freshwater Research*, 45(5), 875-887.
- Carpentier, C.J., Hoogenboezem, W., & Ketelaars, H.A.M. (1999). Cyanobacterietoxines en drinkwater bereid uit oppervlakte water. Een worst-case benadering. Rapport. N. V. WBB, Werkendam en N.V. PWN, Haarlem.
- Catherine, Q., Susanna, W., Isidora, E. S., Mark, H., Aurélie, V., & Jean-François, H. (2013). A review of current knowledge on toxic benthic freshwater cyanobacteria - Ecology, toxin production and risk management. In *Water Research* (Vol. 47, Issue 15, pp. 5464–5479). Elsevier Ltd. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2013.06.042>
- Chaffin, J. D., Bridgeman, T. B., & Bade, D. L. (2013). Nitrogen constrains the growth of late summer cyanobacterial blooms in Lake Erie. *Advances in Microbiology*, 2013.

Chintalapati, P., & Mohseni, M. (2020). Degradation of cyanotoxin microcystin-LR in synthetic and natural waters by chemical-free UV/VUV radiation. *Journal of Hazardous Materials*, 381, 120921. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2019.120921>

Chiswell, R. K., Shaw, G. R., Eaglesham, G., Smith, M. J., Norris, R. L., Seawright, A. A., & Moore, M. R. (1999). Stability of cylindrospermopsin, the toxin from the cyanobacterium, *Cylindrospermopsis raciborskii*: Effect of pH, temperature, and sunlight on decomposition. *Environmental Toxicology*, 14(1), 155-161.

Chorus, I., & Welker, M. (2021). *Toxic cyanobacteria in water: a guide to their public health consequences, monitoring and management*. Taylor & Francis.

Cirés, S., Casero, M. C., & Quesada, A. (2017). Toxicity at the Edge of Life: A Review on Cyanobacterial Toxins from Extreme Environments. *Marine Drugs*, 15(7), 233. <https://www.mdpi.com/1660-3397/15/7/233>

Dziga, D., Maksylewicz, A., Maroszek, M., Budzyńska, A., Napiorkowska-Krzebietke, A., Toporowska, M., Grabowska, M., Kozak, A., Rosińska, J., & Meriluoto, J. (2017). The biodegradation of microcystins in temperate freshwater bodies with previous cyanobacterial history. *Ecotoxicology and environmental safety*, 145, 420-430.

Ebbeng, J.H. (2001). *Benthische cyanobacteriën in de Biesboschbekkens in 2000*. Rapport. N.V. WBB, Werkendam.

Faassen E.J., & Lüring M. (2013). Occurrence of the Microcystins MC-LW and MC-LF in Dutch Surface Waters and Their Contribution to Total Microcystin Toxicity. *Marine Drugs*, 11(7), 2643-2654. <https://doi.org/10.3390/md11072643>

Fan, J., Rao, L., Chiu, Y.-T., & Lin, T.-F. (2016). Impact of chlorine on the cell integrity and toxin release and degradation of colonial *Microcystis*. *Water Research*, 102, 394-404.

Fastner, J., Beulker, C., Geiser, B., Hoffmann, A., Kröger, R., Teske, K., Hoppe, J., Mundhenk, L., Neurath, H., Sagebiel, D., & Chorus, I. (2018). Fatal Neurotoxicosis in Dogs Associated with Tychoplanktic, Anatoxin-a Producing *Tychonema* sp. in Mesotrophic Lake Tegel, Berlin. *Toxins*, 10(2), 60. <https://doi.org/10.3390/toxins10020060>

Fiore, M. F., de Lima, S. T., Carmichael, W. W., McKinnie, S. M. K., Chekan, J. R., & Moore, B. S. (2020). Guanitoxin, re-naming a cyanobacterial organophosphate toxin. *Harmful Algae*, 92, 101737. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.hal.2019.101737>

Harding, W., Rowe, N., Wessels, J.C., Beattie, K.A., & Codd, G. (1995). Death of a dog attributed to the cyanobacterial (blue-green algal) hepatotoxin nodularin in South Africa. *Journal of the South African Veterinary Association*, 66(4), 256-259.

Havaux, M. (2020). β -Cyclocitral and derivatives: Emerging molecular signals serving multiple biological functions. *Plant Physiology and Biochemistry*.

Hisbergues, M., Christiansen, G., Rouhiainen, L., Sivonen, K., & Börner, T. (2003). PCR-based identification of microcystin-producing genotypes of different cyanobacterial genera. *Archives of microbiology*, 180(6), 402-410.

Huisman, J., Codd, G. A., Paerl, H. W., Ibelings, B. W., Verspagen, J. M., & Visser, P. M. (2018). Cyanobacterial blooms. *Nature Reviews Microbiology*, 16(8), 471-483.

Ibelings, B. W., Backer, L. C., Kardinaal, W. E. A., & Chorus, I. (2014). Current approaches to cyanotoxin risk assessment and risk management around the globe. *Harmful algae*, 40, 63-74.

Izaguirre, G., Hwang, C. J., Krasner, S. W., & McGuire, M. J. (1982). Geosmin and 2-methylisoborneol from cyanobacteria in three water supply systems. *Applied and Environmental Microbiology*, 43(3), 708-714.

Izaguirre, G., Wolfe, R. L., & Means III, E. G. (1988). Degradation of 2-methylisoborneol by aquatic bacteria. *Applied and environmental microbiology*, 54(10), 2424-2431.

Janssen, E. M. L. (2019). Cyanobacterial peptides beyond microcystins – A review on co-occurrence, toxicity, and challenges for risk assessment. *Water Research*, 151, 488–499. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2018.12.048>

Jones, M. R., Pinto, E., Torres, M. A., Dörr, F., Mazur-Marzec, H., Szubert, K., Tartaglione, L., Dell’Aversano, C., Miles, C. O., Beach, D. G., McCarron, P., Sivonen, K., Fewer, D. P., Jokela, J., & Janssen, E. M. L. (2021). CyanoMetDB, a comprehensive public database of secondary metabolites from cyanobacteria. *Water Research*, 196, 117017. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2021.117017>

Jüttner, F., & Lüthi, H. (2008). Topology and enhanced toxicity of bound microcystins in *Microcystis* PCC 7806. *Toxicon*, 51(3), 388-397.

Jüttner, F., & Watson, S. B. (2007). Biochemical and ecological control of geosmin and 2-methylisoborneol in source waters. *Applied and Environmental Microbiology*, 73(14), 4395-4406.

Kakimoto, M., Ishikawa, T., Miyagi, A., Saito, K., Miyazaki, M., Asaeda, T., Yamaguchi, M., Uchimiya, H., & Kawai-Yamada, M. (2014). Culture temperature affects gene expression and metabolic pathways in the 2-methylisoborneol-producing cyanobacterium *Pseudanabaena galeata*. *Journal of Plant Physiology*, 171(3), 292-300. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.jplph.2013.09.005>

Kardinaal, W. E. A. (2013). Cyanobacteriën: wat zit erin het ruwe water en hoe komen we ervan af. KWR rapport BTO 2013.016.

Ketelaars, H. A. M., & J. H. Ebbeng (1994). Ursachen und Bekämpfung der Geruchs- und Geschmacksprobleme beim Speicherbeckenverband Brabantse Biesbosch. *ATT Information*, Academic Book Centre, De Lier, 155-169.

Kwon, Y. S., Pyo, J., Kwon, Y. H., Duan, H., Cho, K. H., & Park, Y. (2020). Drone-based hyperspectral remote sensing of cyanobacteria using vertical cumulative pigment concentration in a deep reservoir. *Remote Sensing of Environment*, 236, 111517.

Lee, J., Rai, P. K., Jeon, Y. J., Kim, K. H., & Kwon, E. E. (2017). The role of algae and cyanobacteria in the production and release of odorants in water. *Environmental Pollution*, 227, 252–262. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2017.04.058>

Li, Z., Hobson, P., An, W., Burch, M. D., House, J., & Yang, M. (2012). Earthy odor compounds production and loss in three cyanobacterial cultures. *Water Research*, 46(16), 5165-5173. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.watres.2012.06.008>

Lichtenberg, M., Cartaxana, P., & Köhl, M. (2020). Vertical migration optimizes photosynthetic efficiency of motile cyanobacteria in a coastal microbial mat. *Frontiers in Marine Science*, 7, 359.

Lürling, M., & Tolman, Y. (2014). Beating the blues: Is there any music in fighting cyanobacteria with ultrasound? *Water Research*, 66, 361–373. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2014.08.043>

Lürling, M., Eshetu, F., Faassen, E. J., Kosten, S., & Huszar, V. L. (2013). Comparison of cyanobacterial and green algal growth rates at different temperatures. *Freshwater Biology*, 58(3), 552-559.

Ma, Z., Niu, Y., Xie, P., Chen, J., Tao, M., & Deng, X. (2013). Off-flavor compounds from decaying cyanobacterial blooms of Lake Taihu. *Journal of Environmental Sciences*, 25(3), 495-501.

Merel, S., Walker, D., Chicana, R., Snyder, S., Baurès, E., & Thomas, O. (2013). State of knowledge and concerns on cyanobacterial blooms and cyanotoxins. *Environment International*, 59, 303-327. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.envint.2013.06.013>

Meriluoto, J., Spoof, L., & Codd, G. A. (2017). Handbook of cyanobacterial monitoring and cyanotoxin analysis. John Wiley & Sons.

Metcalf, J. S., & Codd, G. A. (2020). Co-occurrence of cyanobacteria and cyanotoxins with other environmental health hazards: Impacts and implications. *Toxins*, 12(10), 629. <https://doi.org/10.3390/toxins12100629>

Metcalf, J. S., Barakate, A., & Codd, G. A. (2004). Inhibition of plant protein synthesis by the cyanobacterial hepatotoxin, cylindrospermopsin. *FEMS microbiology letters*, 235(1), 125-129.

Mur, R., Skulberg, O. M., & Utkilen, H. (1999). Cyanobacteria in the Environment. In: Chorus, I. and Bartram, J., Eds., *Toxic Cyanobacteria in Water: A Guide to their Public Health Consequences, Monitoring and Management*, London, E. and FN Spon (on Behalf of WHO), 15-40.

Oh, H.-S., Lee, C. S., Srivastava, A., Oh, H.-M., & Ahn, C.-Y. (2017). Effects of environmental factors on cyanobacterial production of odorous compounds: geosmin and 2-methylisoborneol. *Journal of microbiology and biotechnology*, 27(7), 1316-1323.

Ohtani, I., Moore, R. E., & Runnegar, M. T. C. (1992). Cylindrospermopsin: a potent hepatotoxin from the blue-green alga *Cylindrospermopsis raciborskii*. *Journal of the American Chemical Society*, 114(20), 7941-7942. <https://doi.org/10.1021/ja00046a067>

Paerl, H. W., & Huisman, J. (2009). Climate change: a catalyst for global expansion of harmful cyanobacterial blooms. *Environmental Microbiology Reports*, 1(1), 27-37. <https://doi.org/https://doi.org/10.1111/j.1758-2229.2008.00004.x>

Paerl, H., & Fulton, R. (2006). Ecology of harmful cyanobacteria. In: *Ecology of harmful algae* (pp. 95-109), Springer.

Perkins, R. G., Slavin, E. I., Andrade, T. M. C., Blenkinsopp, C., Pearson, P., Froggatt, T., Godwin, G., Parslow, J., Hurley, S., Luckwell, R., & Wain, D. J. (2019). Managing taste and odour metabolite production in drinking water reservoirs: The importance of ammonium as a key nutrient trigger. *Journal of Environmental Management*, 244, 276-284. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2019.04.123>

Pinto, F., Pacheco, C. C., Ferreira, D., Moradas-Ferreira, P., & Tamagnini, P. (2012). Selection of suitable reference genes for RT-qPCR analyses in cyanobacteria. *PLoS ONE*, 7(4), e34983.

Preußel, K., Stüken, A., Wiedner, C., Chorus, I., & Fastner, J. (2006). First report on cylindrospermopsin producing *Aphanizomenon flos-aquae* (Cyanobacteria) isolated from two German lakes. *Toxicon*, 47(2), 156-162.

Quiblier, C., Susanna, W., Isidora, E.-S., Mark, H., Aurelie, V., & Jean-François, H. (2013). A review of current knowledge on toxic benthic freshwater cyanobacteria—ecology, toxin production and risk management. *Water Research*, 47(15), 5464-5479.

Rajasekhar, P., Fan, L., Nguyen, T., & Roddick, F. A. (2012). A review of the use of sonication to control cyanobacterial blooms. In *Water Research* (Vol. 46, Issue 14, pp. 4319–4329). Elsevier Ltd. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2012.05.054>

Rapala, J., Sivonen, K., Lyra, C., & Niemelä, S. I. (1997). Variation of microcystins, cyanobacterial hepatotoxins, in *Anabaena* spp. as a function of growth stimuli. *Applied and Environmental Microbiology*, 63(6), 2206-2212. <https://doi.org/doi:10.1128/aem.63.6.2206-2212.1997>

Robertson, R. F., Hammond, A., Jauncey, K., Beveridge, M. C. M., & Lawton, L. A. (2006). An investigation into the occurrence of geosmin responsible for earthy–musty taints in UK farmed rainbow trout, *Onchorhynchus mykiss*. *Aquaculture*, 259(1), 153-163. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2004.11.046>

Ross, C., Santiago-Vázquez, L., & Paul, V. (2006). Toxin release in response to oxidative stress and programmed cell death in the cyanobacterium *Microcystis aeruginosa*. *Aquatic Toxicology*, 78(1), 66-73.
<https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.aquatox.2006.02.007>

Saadoun, I. M. K., Schrader, K. K., & Blevins, W. T. (2001). Environmental and nutritional factors affecting geosmin synthesis by *Anabaena* SP. *Water Research*, 35(5), 1209-1218. [https://doi.org/https://doi.org/10.1016/S0043-1354\(00\)00381-X](https://doi.org/https://doi.org/10.1016/S0043-1354(00)00381-X)

Sollie, S. en E. Kardinaal, 2020. Risicobeoordeling blauwalgen in zwemwater - Nieuwe technieken voor de bepaling van de aanwezigheid van blauwalgtoxines. STOWA rapport 2020-09

Stauffer, B. A., Bowers, H. A., Buckley, E., Davis, T. W., Johengen, T. H., Kudela, R., McManus, M. A., Purcell, H., Smith, G. J., Vander Woude, A., & Tamburri, M. N. (2019). Considerations in Harmful Algal Bloom Research and Monitoring: Perspectives From a Consensus-Building Workshop and Technology Testing. *Frontiers in Marine Science*, 6(JUL), 399. <https://doi.org/10.3389/fmars.2019.00399>

Stevens, D., & Krieger, R. (1991). Stability studies on the cyanobacterial nicotinic alkaloid saxitoxin-A. *Toxicon*, 29(2), 167-179.

Stroom, J. M., & Kardinaal, W. E. A. (2016). How to combat cyanobacterial blooms: strategy toward preventive lake restoration and reactive control measures. *Aquatic Ecology*, 50(3), 541-576.

Su, M., Yu, J., Zhang, J., Chen, H., An, W., Vogt, R. D., Andersen, T., Jia, D., Wang, J., & Yang, M. (2015). MIB-producing cyanobacteria (*Planktothrix* sp.) in a drinking water reservoir: Distribution and odor producing potential. *Water Research*, 68, 444-453. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2014.09.038>

Suurnäkki, S., Gomez-Saez, G. V., Rantala-Ylinen, A., Jokela, J., Fewer, D. P., & Sivonen, K. (2015). Identification of geosmin and 2-methylisoborneol in cyanobacteria and molecular detection methods for the producers of these compounds. *Water Research*, 68, 56-66. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2014.09.037>

ThermoFisher (2016). <https://assets.thermofisher.com/TFS-Assets/LPD/Product-Information/Measuring-Chlorophyll-a-ST-CHLOROPHYLL-EN.pdf#:~:text=Chlorophyll%20a%20is%20measured%20by%20filtering%20a%20known,b%20to%20in%20the%20image%20to%20the%20left7>.

Trainer, V. L., & Hardy, F. J. (2015). Integrative monitoring of marine and freshwater harmful algae in Washington State for public health protection. *Toxins*, 7(4), 1206-1234.

Valério, E., Chaves, S., & Tenreiro, R. (2010). Diversity and impact of prokaryotic toxins on aquatic environments: a review. *Toxins*, 2(10), 2359-2410.

Van Asperen, A. W. (2015). Verwijdering van cyanobacteriën op de productielocatie Baanhoek.

Van Breemen, L., Dits, J., & Ketelaars, H. (1992). Production and reduction of geosmin and 2-methylisoborneol during storage of river water in deep reservoirs. *Water Science and Technology*, 25(2), 233-240.

Vernooij, S, Ogier, J, Nederlof, M, Carpentier, C & Kardinaal, WEA. 2011. Cyanotoxines en drinkwater. Risico's van de aanwezigheid van cyanobacteriën en cyanotoxines in oppervlaktewater bestemd voor de drinkwaterproductie. BTO 2011.115 KWR, Nieuwegein.

Visser, P. M., Ibelings, B. W., Bormans, M., & Huisman, J. (2016). Artificial mixing to control cyanobacterial blooms: a review. *Aquatic Ecology*, 50(3), 423-441.

Wagenvoort, A. (2010). Cyanobacteriën in Biesboschspaarbekken De Gijster. Een actueel overzicht van de problemen en risico's. Rapport AqWa - Evides T&B 2009R33.

- Walls, J. T., Wyatt, K. H., Doll, J. C., Rubenstein, E. M., & Rober, A. R. (2018). Hot and toxic: Temperature regulates microcystin release from cyanobacteria. *Science of The Total Environment*, 610-611, 786-795.
<https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2017.08.149>
- Wang, D., Bolton, J. R., Andrews, S. A., & Hofmann, R. (2015). UV/chlorine control of drinking water taste and odour at pilot and full-scale. *Chemosphere*, 136, 239–244. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2015.05.049>
- WHO (2017). Guidelines for drinking-water quality: first addendum to the fourth edition.
- WHO (2021): Chorus, I, Welker M; eds. 2021. Toxic Cyanobacteria in Water, 2nd edition. CRC Press, Boca Raton (FL), on behalf of the World Health Organization, Geneva, CH.
- Wood, S. A., Kelly, L. T., Bouma-Gregson, K., Humbert, J., Laughinghouse, H. D., Lazorchak, J., McAllister, T. G., McQueen, A., Pokrzywinski, K., Puddick, J., Quiblier, C., Reitz, L. A., Ryan, K. G., Vadeboncoeur, Y., Zastepa, A., & Davis, T. W. (2020). Toxic benthic freshwater cyanobacterial proliferations: Challenges and solutions for enhancing knowledge and improving monitoring and mitigation. *Freshwater Biology*, 65(10), 1824–1842.
<https://doi.org/10.1111/fwb.13532>
- Wood, S. A., Kuhajek, J. M., de Winton, M., & Phillips, N. R. (2012). Species composition and cyanotoxin production in periphyton mats from three lakes of varying trophic status. *FEMS Microbiology Ecology*, 79(2), 312–326.
<https://doi.org/10.1111/j.1574-6941.2011.01217.x>
- Wullings, B. van der Linde, D., Kardinaal, E. (2009). Ontwikkeling van Q-PCR methoden voor de kwantitatieve detectie van toxineproducerende cyanobacteriën. KWR rapport KWR 09.089.
- Wullings, B., & Kardinaal, E. (2009). Ontwikkeling van Q-PCR methoden voor de kwantitatieve detectie van de verschillende toxineproducerende cyanobacteriën.
- Wullings, B., Learbuch, K., Kardinaal, E., van der Linde, F. (2014). DNA--toolbox klaar voor routinematig detecteren van blauwalgen. H2O-Online / 22 april 2014.
- Xu, L., Xiong, B., Pan, Y., Wang, J., Cao, H., & Zhao, W. (2010). Relationship between concentrations of odorous compounds and biomass of phytoplankton and actinomycetes in freshwater ponds of Beijing, China. *Aquaculture international*, 18(3), 245-254.
- Zamyadi, A., Henderson, R., Stuetz, R., Hofmann, R., Ho, L., & Newcombe, G. (2015). Fate of geosmin and 2-methylisoborneol in full-scale water treatment plants. *Water Research*, 83, 171–183.
<https://doi.org/10.1016/j.watres.2015.06.038>
- Zhang, T., Li, L., Song, L., & Chen, W. (2009). Effects of temperature and light on the growth and geosmin production of *Lyngbya kuetzingii* (Cyanophyta). *Journal of Applied Phycology*, 21(3), 279-285.
- Zilliges, Y., Kehr, J.-C., Meissner, S., Ishida, K., Mikkat, S., Hagemann, M., Kaplan, A., Boerner, T., & Dittmann, E. (2011). The cyanobacterial hepatotoxin microcystin binds to proteins and increases the fitness of *Microcystis* under oxidative stress conditions. *PLoS one*, 6(3), e17615.
- Zumft, W. G. (1997). Cell biology and molecular basis of denitrification. *Microbiology and molecular biology reviews*, 61(4), 533-616