

(xeno)-oestrogene stoffen en de oestrogene potentie in watersystemen en afvalwater (Belfroid e.a., 1999). De resultaten kunt u lezen in de twee volgende artikelen. 

LITERATUUR

- Belfroid A., Murk T., de Voogt P., Schäfer A., Rijs G. en D. Verhaak (1999). Hormoonontregelaars in water. Oriënterende studie naar de aanwezigheid van oestrogeen-actieve stoffen in watersystemen en afvalwater in Nederland. RIZA/RIKZ-rapport 99.007/99.024 (in druk).
- Colborn T. en C. Clement (1992). *Advances in modern environmental toxicology* (vol. 21). Princeton Scientific Publishing Co.
- CSTEE (1999) Opinion on human and wildlife health effects of endocrine disrupting chemicals, with emphasis on wildlife and on ecotoxicology test methods. Report of the working group on endocrine disrupter of the Scientific Committee on Toxicity, Ecotoxicity and the Environment (CSTEE) of DG XXIV, Consumers Policy and Consumer Health Protection.
- Desbrow C., Routledge E., Brighty G., Sumpter J. en M. Waldock (1998). Identification of estrogenic chemicals in STW effluent. 1. Chemical fractionation and *in vitro* biological screening. *Environ. Sci. Technol.* 32, pagina 1549-1558.
- Gezondheidsraad (1997). Hormoonontregelaars en de humane voortplanting en ontwikkeling. Hormoonontregelaars in de mens. Publicatienummer 1997/08.
- Gezondheidsraad (1999). Hormoonontregelaars in ecosystemen. Publicatienummer 1999/13.
- Jobling S., Tyler C., Nolan M. en J. Sumpter (1998). The identification of estrogenic effects in wild fish. R & D technical report W119, Environment Agency, Bristol.
- Koeman J., Ten Oever den Brauw M. en R. de Vos (1969). Chlorinated biphenyls in fish, mussels and birds from the river Rhine and the Netherlands coastal area. *Nature* nr. 221, pagina 1126-1128.
- Legler J. en T. Murk (1999) voorstudies Landelijk Onderzoek Oestrogene Stoffen. Interne notitie Wageningen Universiteit/RIZA.
- Leonards P., Verhaak A. en P. de Voogt (1996). Oestrogeen-actieve stoffen in het milieu. RIKZ/SENSE.
- Matthiessen P., Allen Y., Allchin C., Feist S., Kirby M., Law R., Scott A., Thain J. en K. Thomas (1998). Oestrogenic endocrine disruption in flounder (*Platichthys flesus* L.) from United Kingdom estuarine and marine waters. *Sci. Ser. Tech. Rep.*, CEFAS, Lowestoft (107).
- Routledge E., Sheenan D., Desbrow C., Brighty G., Waldock M. en J. Sumpter (1998). Identification of estrogenic chemicals in STW Effluent 2. *in vivo*-responses in trout and roach. *Environ. Sci. Technol.* 32, pagina 1559-1565.
- Sumpter J. en S. Jobling (1995). Vitellogenesis as a biomarker for oestrogenic contamination of the aquatic environment. *Environ. Health Perspect.* 103 (suppl. 7), pagina 173-178.
- Verhaak D., van der Burg B., Rijs G. en A. Brouwer (1999). Proceedings of symposium 'Endocrine disrupting compounds: wildlife and human health risks' (in druk).
- VROM (1999). Notitie hormoonontregelende stoffen. DGM/SVS/99182381.



Speuren naar (xeno)oestrogene sporen

A. BELFROID, VRIJE UNIVERSITEIT VAN AMSTERDAM, INSTITUUT VOOR MILIEUVRAAGSTUKKEN
P. DE VOOGT, UNIVERSITEIT VAN AMSTERDAM, VAKGROEP MILIEU EN TOXICOLOGISCHE CHEMIE
E. VAN DER VELDE, RIJKSINSTITUUT VOOR VOLKSGEZONDHEID EN MILIEU
G. RIJS, RIJKSINSTITUUT VOOR INTEGRAAL ZOETWATERBEHEER EN AFVALWATERBEHANDELING

In een voorstudie is een eerste indruk gekregen van de aanwezigheid van enkele verdachte hormoonontregelaars in watersystemen in Nederland. De resultaten tonen aan dat natuurlijke oestrogene hormonen en xeno-oestrogene stoffen van niet natuurlijke oorsprong in afvalwater voorkomen. Ook in oppervlaktewater werden natuurlijke oestrogene hormonen en bisfenol-A aangetroffen, terwijl ftalaten en alkylfenol(ethoxylaten) voornamelijk in zwevend stof en sediment gevonden werden. Deze resultaten maken duidelijk dat een uitgebreide 'baseline'-studie van hormoonontregelende stoffen in Nederland noodzakelijk is.

Wereldwijd worden verschillende stoffen geïdentificeerd die als potentieel verdacht worden aangemerkt voor hormoonontregeling. Dit kunnen stoffen zijn die in diverse industriële productieprocessen worden toegepast, maar ook de natuurlijke oestrogene hormonen die worden uitgescheiden door mens en vee en het synthetische 17 α -ethinyloestradiol, dat in de anticonceptiepill wordt toegepast. Het doel van de voorstudie (Belfroid e.a., 1999), uitgevoerd in het najaar van 1997, was om de beschikbare chemische en biologische analysemethoden in diverse milieumatrices te optimaliseren en vervolgens een eerste indruk te krijgen van de aanwezigheid van deze (xeno)-oestrogenen in afval- en oppervlaktewater in Nederland, alsmede het meten van de totale oestrogene potentie in dezelfde milieumontsters (zie het volgende artikel in dit drieluik).

Locatiekeuze

Bij de keuze van de meetlocaties voor het oppervlaktewater in de zoete, brakke en zoute Rijkswateren is zoveel mogelijk aangesloten bij het landelijk routinematig monitoringsonderzoek, dat jaarlijks door RIZA en RIKZ wordt uitgevoerd. Voor het afvalwater zijn de meetlocaties (stedelijk en industrieel) zo geselecteerd dat deze een zo goed mogelijke afspiege-

ling geven van de afvalwaterstromen in Nederland. Het stedelijk afvalwater betreft het influent en effluent van rioolwaterzuiveringsinrichtingen. Het industrieel afvalwater is afkomstig van twee (biologische) afvalwaterzuiveringsinstallaties en van twee persleidingen van industrieterreinen. Doelbewust is niet gekozen voor afvalwaterstromen, waarvan op basis van de samenstelling een hoge concentratie van één van de te analyseren stoffen werd verwacht.

Resultaten

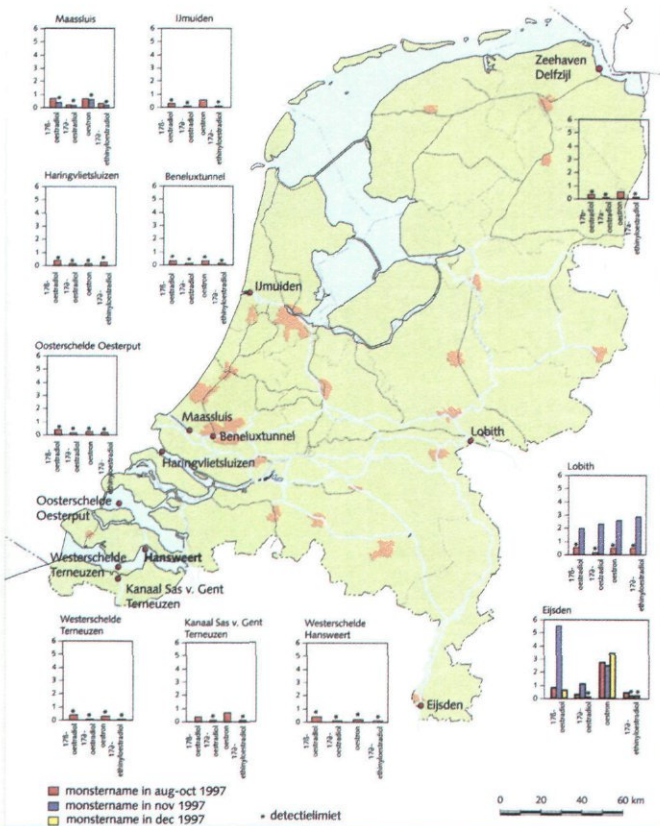
Oestrogene hormonen

Oestrogene hormonen (17 β - en 17 α -oestradiol, oestron en het synthetische 17 α -ethinyloestradiol) werden aangetroffen in oppervlaktewater in rivieren en kanalen nabij stedelijke agglomeraties, maar niet in open wateren waar veel verdunning optreedt (afb. 1). De oestrogene hormonen die veelvuldig werden aangetroffen in oppervlaktewater zijn de natuurlijke hormonen 17 β -oestradiol en oestron. De in Nederland aangetroffen gehalten zijn vergelijkbaar met die in de ons omringende landen.

In afvalwater werden naast 17 β -oestradiol en oestron ook de overige twee gemeten hormonen, 17 α -oestradiol en het synthetische 17 α -ethinyloestradiol, aangetroffen. In afbeelding 2 is het gehalte van 17 β -oestradiol in afvalwater weergegeven; voor de andere oestrogene hormonen werd een vergelijkbaar patroon gevonden. De gegevens tonen dat oestrogene hormonen voornamelijk in huishoudelijk afvalwater voorkomen. De gehalten in het effluent van rwzi's zijn hierbij aanzienlijk lager dan in ruw rioolwater. De dataset is echter nog te gering om een uitspraak te doen over de verwijderingsefficiëntie.

Ftalaten

Ftalaten worden onder andere toegepast als weekmakers in plastics. Door wijdverbreide



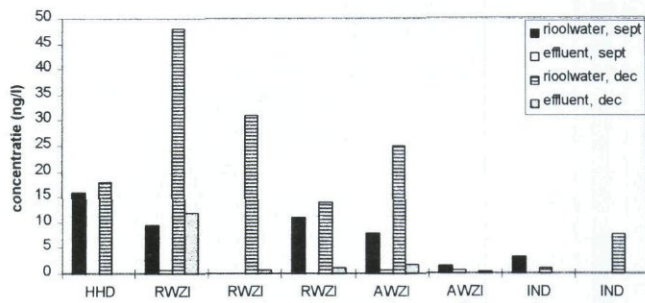
Afb. 1 Aanwezigheid van oestrogene hormonen (in ng/l) in oppervlaktewater in Nederland in 1997.

toepassing en uitloging kunnen ftalaten overal in het milieu aangetroffen worden. In de voorstudie bleek het mogelijk om deze groep van stoffen in alle matrices (leidingwater, oppervlaktewater, sediment, zwevend stof, mosselen, afvalwater en zuiveringsslib) te kunnen aantonen.

In oppervlaktewater werden gehalten aangetroffen die lagen in de orde van µg/l.

gegeven in tabel 1. Hieruit blijkt dat de meest algemeen voorkomende ftalaat de hydrofobe di(2-ethylhexyl)ftalaat (DEHP) is.

Gehalten in effluenten van rwzi's liggen in dezelfde orde van grootte als in oppervlaktewater en zijn veel lager dan in ongezuiverd afvalwater. Ftalaten lijken zowel in huishoudelijk als industrieel afvalwater in gelijke mate voor te komen. De aangetroffen gehalten in



Afb. 2 Gehalten (in ng/l) aan 17β-oestradiol in vijf rwzi's en drie rioolpunten in 1997. HHD is ruw rioolwater van een woonwijk. RWZI 1-3 zijn stedelijke rwzi's. AWZI A en B zijn industriële awzi's en IND C en D zijn locaties voor rioolwater van twee industrieterreinen.

Veel hogere gehalten werden echter aangetroffen in zwevend stof en sediment (tot 30.000 µg/kg droge stof). Dit houdt verband met het hydrofobe karakter van veel ftalaten. Een overzicht van het voorkomen van ftalaten is weer-

Nederland zijn vergelijkbaar met die in ons omringende landen.

Bisfenol-A

Bisfenol-A wordt eveneens gebruikt bij de productie van plastics en in epoxyharsen. Het algehele beeld is dat de concentraties bisfenol-A in rivieren en bij riviermondingen hoger lagen dan op de overige locaties (gemiddeld rond 40 ng/l tegenover elders 4 ng/l (afb. 3)).

In afvalwater was het bisfenol-A gehalte veel hoger; in ruw rioolwater gewoonlijk tussen de 200 en 1000 ng/l, in het effluent van een rwzi/awzi een factor 10 lager. Ook in zuiveringsslib werd bisfenol-A regelmatig aangetroffen. Gehaltes liepen daarin op tot 7000 ng/l (270 µg/kg droge stof). Er zijn weinig meetgegevens over bisfenol-A in oppervlakte- of afvalwater uit de ons omringende landen beschikbaar, zodat een vergelijking niet mogelijk is.

APEO's

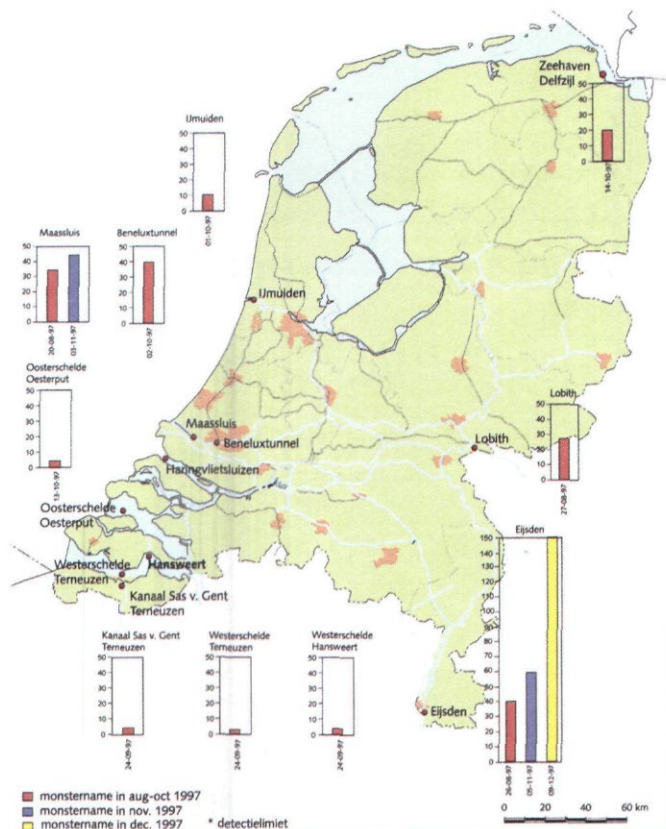
Alkylfenoethoxylaten (APEO's) zijn oppervlakte-actieve stoffen die onder andere in industriële reinigingsmiddelen worden toegepast. Ze vormen een groep van verbindingen met verschillende eigenschappen (zie ook kader). Nonylfenol (NP), de belangrijkste alkylfenol (AP), is een grondstof voor de APEO-productie en wordt tevens als stabilisator in plastics gebruikt. In deze studie zijn in zwevend stof en sediment APEO-gehalten van 8 µg/kg droge stof (tabel 2) aangetroffen, terwijl in oppervlaktewater het gehalte zelfs op relatief verontreinigde locaties onder de detectielimiet bleef.

In afvalwater, met name industrieel afvalwater, werden relatief hoge gehalten APEO's aangetroffen in de orde van µg/l tot zelfs mg/l. Zoals uit tabel 2 blijkt zijn de gehalten in effluent van rwzi/awzi aanzienlijk lager dan in influent. Dit duidt op omzetting van de oorspronkelijke verbindingen en/of adsorptie aan slib in een rwzi (zie kader). Ook in zuiveringsslib werden hoge gehalten NPEO's en NP aangetroffen. Op een enkele locatie werden ook

Tabel 1: Concentratie ranges (in µg/l of µg/kg droge stof) van zes ftalaten in diverse milieumatrices (1997).

	DMP ¹⁾	DEP	DBP	BBP	DEHP	DOP
leidingwater	<d.l.	<d.l.- 0,1	0,2 - 2,3	<d.l.	0,4 - 3,5	<d.l.
milieumatrices						
oppervlaktewater	<d.l.- 0,5	<d.l.- 2,6	<d.l.- 0,7	<d.l.	0,04 - 1,9	<d.l.
sediment	<d.l.	<d.l.- 33	<d.l.- 114	<d.l.- 56	106 - 2866	<d.l.
zwevend stof	<d.l.- 58	22 - 40	98 - 1500	<d.l.- 705	590 - 27000	<d.l.
biota	<d.l.	58 - 660	190 - 4380	<d.l.- 1730	<d.l.- 8040	<d.l.
stedelijk afvalwater						
influent/rioolwater	1,1 - 4,6	7 - 30	1,8 - 5,6	0,3 - 2,0	8,7 - 27	<d.l.- 0,4
riool-/zuiveringsslib	<d.l.- 430	<d.l.- 1500	690 - 1100	<d.l.- 2300	1600-98000	<d.l.- 2000
effluent	0,2	0,4 - 1,8	0,8 - 2,1	<d.l.	1,0 - 2,9	<d.l.
industrieel afvalwater						
influent/rioolwater	0,3 - 1,9	1,0 - 77	1,0 - 9,6	<d.l.- 0,5	<0,4 - 26,3	<d.l.- 0,4
riool-/zuiveringsslib	<d.l.- 580	<d.l.- 2800	720 - 3200	<d.l.- 990	8000-258000	<d.l.-17000
effluent	0,1 - 0,3	1,2 - 1,4	0,6 - 0,8	<d.l.	0,7 - 4,1	<d.l.

1) DMP = dimethylftalaat, DEP = diethylftalaat, DBP = di-n-butylftalaat, BBP = butylbenzylftalaat, DEHP = di(2-ethylhexyl)ftalaat, DOP = di-n-octylftalaat.



Afb. 3 Aanwezigheid van bisfenol-A (in ng/l) in oppervlaktewater in Nederland in 1997.

octylfenoethoxylaten in het slib aangetoond.

De gehalten van NP en NPEO's in oppervlaktewateren in Nederland liggen volgens de studie uit 1997 over het algemeen lager dan elders in Europa en Noord-Amerika zijn gemeten. De in deze studie gemeten concentraties in afvalwater komen goed overeen met de in de literatuur gerapporteerde ranges. De gemeten waarden in effluenten van rwzi en awzi's liggen in tegenstelling tot de ons omringende landen doorgaans in het lage gebied van deze concentratieranges.

Algemene patronen van voorkomen hormoonontregelaars

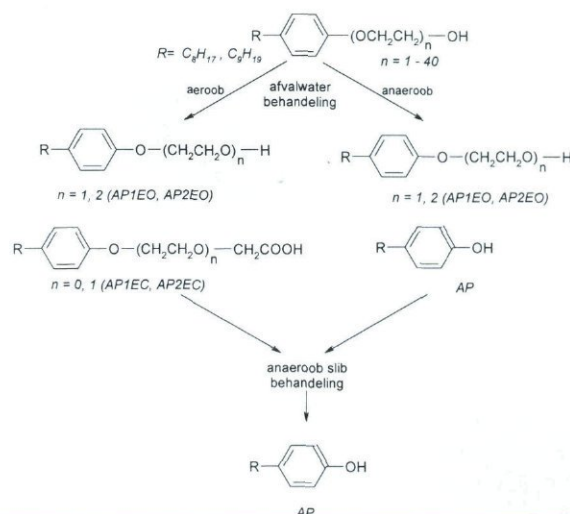
Samengevat kan worden gesteld dat in oppervlaktewater alle onderzochte stoffen worden aangetroffen en dat daarbij oestrogene hormonen en bisfenol-A voornamelijk opgelost aanwezig zijn, terwijl ftalaten en APEO's zich voornamelijk bevinden in zwevend stof en sediment.

In ongezuiverd afvalwater zijn alle verbindingen die in deze voorstudie zijn betrokken, meerdere malen aangetroffen. Gehalten waren relatief laag voor de hormonen (tot 150 ng/l), terwijl voor de andere verbindingen bisfenol-A, ftalaten en APEO's gehalten lagen in de orde van enkele tot tientallen µg/l. In effluenten van rwzi/awzi's waren de gehalten van deze verbindingen vergelijkbaar of hoger met die van oppervlaktewater. Hormonen werden zoals verwacht vooral aangetroffen in stedelijk afvalwater, terwijl APEO's en bisfenol-A meer lijken

voor te komen in industrieel afvalwater. Overigens is het van belang op te merken dat het hier om slechts een kleine a-selecte meetcampagne gaat. Het is dan ook belangrijk de resultaten in dit licht te zien: een eerste inventarisatie van de aanwezigheid van potentieel verdachte (xeno)-oestrogene stoffen in diverse milieumatrices in Nederland.

Tabel 2: Concentratie ranges (in µg/l of mg/kg droge stof van nonylfenoethoxylaten (NPEO's) en nonylfenol (NP) in diverse milieumatrices in 1997.

	NPEO	NP
milieumatrices		
oppervlaktewater	<d.l.	<d.l.- 0,14
sediment	2,6 - 5,7	0,63 - 1,70
zwevend stof	0,70 - 8,0	0,21 - 0,62
stedelijk afvalwater		
influent/rioolwater	2,1 - 170	<d.l.- 23
riool-/zuiveringsslib	0,7 - 2400	<d.l.- 125
effluent	<d.l.- 6,1	<d.l.- 1,0
industrieel afvalwater		
influent/rioolwater	20 - 2270	<d.l.- 400
riool-/zuiveringsslib	<d.l.- 1400	<d.l.- 2500
effluent	0,9 - 15	<d.l.- 1,2



Afb. 4 Aërobe en anaërobe transformatie van alkylfenoethoxylaten (Thiele e.a., 1997)

De oplosbaarheid in water van NPEO neemt af met een afnemend aantal ethoxylaateenheden. Als gevolg hiervan hebben nonylfenol en de lagere oligomeren de neiging te zich te verplaatsen naar een lipofiele omgeving, zoals slib sediment en biota. Nonylfenol is zeer slecht oplosbaar in water.

Tussen het lozingspunt en het moment dat het afvalwater de rwzi bereikt worden de hogere goed in water oplosbare oligomeren (met $n > 8$) al deels omgezet in de lagere, slecht in water oplosbare verbindingen. Zo kan in ruw rioolwater een relatieve aanrijking van de lagere oligomeren worden waargenomen. In de rwzi vindt een verdere omzetting plaats waardoor de hogere oligomeren vrijwel geheel verdwijnen ten gunste van de omzettingen producten (zie afbeelding 4). Deze producten zijn resistent tegen verdere biologische afbraak en verlaten de rwzi gedeeltelijk via het effluent. Het grootste gedeelte van de gevormde lagere oligomeren (NP1EO, NP2EO en NP) adsorbeert door hun lipofiele karakter echter aan het slib. In anaëroob slib is verdere omzetting van NP1EO en NP2EO tot NP aangetoond. (Giger e.a., 1984)

Wat betekent dit?

Hormonen en andere hormoonontregelende stoffen kunnen worden aangetoond in Nederlandse watersystemen en afvalwater. De gehalten liggen in de orde van ng/l voor de oestrogene hormonen tot µg/l voor de xeno-oestrogene verbindingen. Voor de natuurlijke hormonen waren de gemeten gehalten weliswaar laag, maar bevonden zich op een aantal locaties boven het effectniveau van 0,3 ng/l. Dit is de drempelwaarde waarbij één van de hormoonontregelende kenmerken, de oestrogeen-gestuurde aanmaak van dooierewit/vitellogenine

bij mannelijke regenboogforellen na langdurige blootstelling, is aangetoond.

Belangrijk bij het beoordelen van de concentratieranges van de overige (xeno)-oestrogene stoffen is de zogenaamde relatieve oestrogene potentie (EEF-factor) van een verbinding. Zoals de naam al doet vermoeden zijn de oestrogene hormonen zeer potent als oestrogene stof, waardoor deze bij lage concentraties al een feminiserend effect zouden kunnen veroorzaken. De andere xeno-oestrogene verbindingen in deze studie bezitten een veel lagere relatieve oestrogene potentie. (Zie tabel 2 in vorig artikel). Een nadere toelichting van het meten van oestrogene potenties met behulp van *in vitro*-testen wordt in het hiernavolgende artikel gegeven.

Ontregeling van de hormoonhuishouding door (xeno)-oestrogene stoffen in een organisme wordt bovendien niet alleen door de potentie van een stof en de concentratie in het milieu bepaald, maar ook door het milieuechemische gedrag van deze stof, haar biologische beschikbaarheid en de kinetiek en afbraak in het organisme zelf. Al deze gegevens zijn nog grotendeels onbekend voor de (xeno)-oestrogene stoffen in deze studie. Of de gemeten concentratieniveaus aan (xeno)-oestrogene stoffen ook werkelijk kunnen resulteren in ecologische consequenties kan op basis van deze studie dan ook niet worden bepaald. Hiervoor is inzicht noodzakelijk in de relatie tussen gehalten van hormoonontregelende stoffen en in het veld geconstateerde effecten, alsmede inzicht in de betekenis van deze effecten op populatie- en ecosysteemniveau. Evenmin kan op basis van de gemeten gehalten (xeno)-oestrogene stoffen in oppervlaktewater en afvalwater een uitspraak worden gedaan over de risico's van deze stoffen in het Nederlands milieu. Voor beide vragen zijn aanvullende studies nodig.

LITERATUUR

- Ahel M., Giger W. en M. Koch (1994). Behaviour of alkylphenol polyethoxylate surfactants in the aquatic environment. Occurrence and transformation in sewage treatment. *Water Res.* 28 (5), pagina 1131-1142.
- Belfroid A., Murk T., de Voigt P., Schäfer A., Rijs G. en D. Vethaak (1999). Hormoonontregelaars in water. Oriënterende studie naar de aanwezigheid van oestrogeen-actieve stoffen in watersystemen en afvalwater in Nederland. RIZA/RIKZ-rapport 99.007/99.024 (in druk).
- Giger W., Brunner P. en C. Schaffner (1984). 4-Nonylphenol in sewage sludge: Accumulation of toxic metabolites from nonionic surfactants. *Science* 225, pagina 623-625.
- Thiele B., Gunther K. en M. Schwuger (1997). Alkylphenol ethoxylates: trace analysis and environmental behavior. *Chem. Rev.* 97, pagina 3247-3272.



Hormoonontregelaars in water opsporen met biologische effectmetingen

T. MURK, WAGENINGEN UNIVERSITEIT, SECTIE TOXICOLOGIE

A. BELFROID, VRIJE UNIVERSITEIT VAN AMSTERDAM, INSTITUUT VOOR MILIEUVRAAGSTUKKEN

D. VETHAAK, RIJKSINSTITUUT VOOR KUST EN ZEE

Van sommige in Nederland voorkomende milieuverontreinigingen is bekend dat ze een hormoonverstorende werking kunnen hebben. Er wordt met name veel aandacht besteed aan stoffen die de werking van vrouwelijke hormonen kunnen nabootsen, de xeno-oestrogenen. De groep van verdachte xeno-oestrogene stoffen groeit nog steeds. Onduidelijk is wat de totale verstoring van alle stoffen samen is. Door gebruik te maken van biologische effectmetingen wordt het mogelijk de totale 'oestrogene potentie' van mengsels van stoffen te bepalen en onbekende (xeno)-oestrogene stoffen op te sporen.

Hiervoor worden zowel laboratoriumtesten met vissen (*in vivo*) als voor dit doel ontwikkelde *in vitro*-testen met speciaal gekweekte cellen gedaan. Het is ook mogelijk om in natuurlijke vispopulaties biomarkers voor oestrogene effecten te bepalen. In een voorstudie voor LOES (Landelijk Onderzoek oEstrogene Stoffen) zijn de voor- en nadelen van een aantal *in vitro*-testen met elkaar vergeleken. De gemeten oestrogene potentie is, vergeleken met de berekende oestrogene potentie, gebaseerd op gemeten chemische concentraties van enkele verdachte (xeno)-oestrogene stoffen.

Ontregeling van geslachtshormonen zou een serieuze bedreiging kunnen vormen voor de voortplanting en daarmee voor het voortbestaan van soorten. Door het wegvallen van diersoorten kunnen natuurlijke evenwichten in kwetsbare ecosystemen ontregeld raken en dit kan op zijn beurt weer het voortbestaan van andere soorten onder druk zetten. De beschikbare kennis over hormoonontregeling is op dit moment nog zeer beperkt. Zo is er tot nu toe vrijwel uitsluitend aandacht besteed aan het chemisch meten van gehalten van een klein aantal zogenoemde (xeno)-oestrogenen. Waarschijnlijk nog maar een fractie van de potentiële probleemstoffen is ook werkelijk

onderzocht op oestrogene werking.

Het onderzoek naar hormoonverstoring met behulp van effectmetingen kent verschillende niveaus. Elk niveau vertegenwoordigt een graad van (biologische) organisatie van molecuul (stof) tot ecosysteem. Naarmate het niveau hoger wordt neemt de voorspellende waarde en daarmee de ecologische relevantie toe. Anderzijds neemt de verstoring door andere (fysiologische en ecologische) factoren ook toe en daarmee de mogelijkheid om een effect te koppelen aan een stofgroep) juist af (afb. 1). Al naar gelang de doelstelling, kunnen verschillende niveaus worden ingezet voor effectmeting. De keuze wordt daarbij in belangrijke mate bepaald door de soort informatie die men wenst, het beschikbare budget en de termijn waarop een resultaat gewenst is.

Effectmetingen worden binnen LOES ingezet met verschillende doelstellingen. De oestrogene potentie van monsters uit verschillende milieu matrices van verschillende locaties worden bepaald met *in vitro*-testen. De vergelijking van deze resultaten met de chemisch vastgestelde concentraties aan (xeno)oestrogene stoffen zullen inzicht verschaffen in de aanwezigheid van (xeno)-oestrogenen en de al dan niet corresponderende oestrogene potentie in het watermilieu. Hieruit kan men onder andere afleiden of er nog verder naar onbekende xeno-oestrogene stoffen moet worden gezocht.

Metingen aan natuurlijke vispopulaties moeten inzicht geven in de daadwerkelijke oestrogene effecten in de Nederlandse wateren. Experimenten waarbij vissen, op locatie en in het lab, worden blootgesteld aan biologisch gezuiverde effluënten zullen informatie verschaffen over de bijdrage van deze lozingen aan de in het veld waargenomen effecten.

Principes van de *in vitro*-testen

Om een indicatie te krijgen van de oestrogene potentie van stoffen in bepaalde milieu-matrices is het gebruik van *in vitro*-testen zeer