

Mutagene activiteit in grondwater

Mobilisatie van organische mutagene verbindingen in de bodem*

Inleiding

In enkele Nederlandse mutageniteits-studies uitgevoerd op drinkwater dat uit grondwater wordt bereid, blijkt dat voornamelijk indirecte mutagene activiteit (een leverenzymenpreparaat het zogenaamde S-9 mix is vereist) in de Ames-test wordt aangetoond [1-3]. De aanwezigheid van voornamelijk indirecte mutagene activiteit wordt zeer waarschijnlijk veroorzaakt door mutagene organische verbindingen van natuurlijke oorsprong. Deze aanname is gebaseerd op het feit, dat diverse grondwaters die deze

Samenvatting

In enkele Nederlandse grondsoorten is met behulp van de zogenaamde Ames test mutagene activiteit aangetoond. De mutagene activiteit kon uit de diverse monsters grond geëxtraheerd worden door de bodem te behandelen met organische oplosmiddelen. De hoogste mutagene respons werd verkregen met dimethylsulfoxide (DMSO). Eveneens werd aangetoond, dat de organische mutagene verbindingen aanwezig in de bodem, gemobiliseerd kunnen worden door de bodem te percoleren met (regen)water. De mobilisatie met (regen)water werd echter niet in alle experimenten waargenomen. Tenslotte kunnen de gevonden resultaten grotendeels de aangetroffen mutagene activiteit in grondwater verklaren, namelijk er kan mobilisatie van de mutagene verbindingen in de bodem met behulp van regenwater optreden, waardoor deze componenten het grondwater kunnen bereiken.



H. J. KOOL
Stichting
Waterlaboratorium Oost,
Doetinchem



C. F. VAN KREYL
RIVM,
Bilthoven



S. PERSAD
Vrije Universiteit
Amsterdam

mutagene activiteit vertonen tegen verontreinigde invloeden beschermd worden door de aanwezigheid van ondoordringbare klei- en leemlagen.

* Het experimentele werk werd uitgevoerd op het RIVM te Leidschendam.

Mutagene stoffen

Elk levend organisme, plant of dier, bevat in zijn cellen erfelijk materiaal waarin de soortkenmerken neergelegd zijn. Dit erfelijk materiaal, het deoxyribonucleïnezuur of DNA, is bij alle levende organismen uit dezelfde structurele eenheden opgebouwd. Verschillen tussen organismen betreffen de hoeveelheid DNA en de volgorde der structurele eenheden. Mutagene stoffen zijn in principe in staat om in het DNA van een cel veranderingen (mutaties) teweeg te brengen. Wordt zo'n verandering niet hersteld, dan zal deze, wanneer ze in geslachtscellen optreedt, in de navolgende generaties gehandhaafd blijven. Treden mutaties op in lichaamscellen dan zou dit uiteindelijk kunnen leiden tot ongecontroleerde celvermeerdering en dus het ontstaan van kanker. Het lot van een mutagene stof voordat het DNA wordt bereikt, verschilt echter van organisme tot organisme. Hierdoor is een directe vergelijking tussen verschillende organismen niet mogelijk.

Daarbij komt nog dat in één gebied waar het grondwater mutagene activiteit bezit, het grondwater zo goed als zeker vele duizenden jaren oud is [3].

Naast de aanwezigheid van indirecte mutagene activiteit wordt ook incidenteel directe mutagene activiteit (leverenzym mix-S-9 niet vereist) aangetoond [1-3]. Om de aanwezigheid van verschillende typen mutageniteit in de diverse grondwaters te kunnen verklaren, werd een onderzoek uitgevoerd waarbij diverse Nederlandse grondsoorten werden onderzocht op het al of niet aanwezig zijn van mutagene activiteit. Daarnaast werd nagegaan of organische mutagene verbindingen, indien aanwezig, gemobiliseerd konden worden met behulp van organische oplosmiddelen en (regen)water.

Materiaal en methoden

Procedure voor het bepalen van mutageniteit in grond

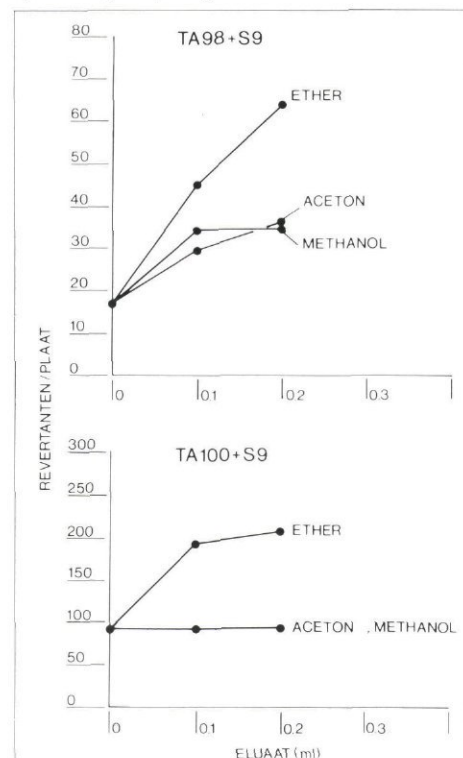
De procedure is reeds elders uitvoerig beschreven [4] en gaat in het kort als volgt:

Monsters grond werden tot op een diepte van 70 centimeter beneden maaiveld genomen en naar het laboratorium vervoerd bij 4-6°C. Ze werden maximaal twee weken bij 4°C bewaard. Het bodem-materiaal werd gezeefd, gedroogd en gehomogeniseerd. Glazen kolommen werden gevuld met de gehomogeniseerde grond en geëluëerd met organische oplosmiddelen of met water. De organische oplosmiddelen in de eluaten met uitzondering van de dimethylsulfoxide (DMSO) eluaten werden afgedampt en de droge residuen werden opgelost in DMSO. De watereluaten werden gesteriliseerd door filtratie via een 0,2µm teflon filter. De DMSO eluaten werden gesteriliseerd door ze dertig minuten te verwarmen bij 80°C. Alle eluaten werden bewaard bij -20°C voordat ze in de Amestest werden onderzocht op mutagene activiteit.

Ames Salmonella/microsome test (Ames test)

Deze procedure is reeds elders uitvoerig beschreven [5,6] en gaat in het kort als volgt: Aan petrischalen (90 mm), die ongeveer 20 ml 1,2% noble agar met Vogel Bonner medium E, biotine en 2% bactodextrose bevat, wordt 3 ml gesmolten topagar dat 0,1 ml nutriënt broth cultuur met de bacterie stam (TA98 of TA100) en al of niet 0,5 ml S9 (mengsel van leverenzymen) bevat, toegevoegd. De stofwisseling van bacteriën verschilt van die van zoogdieren. Om de mogelijke invloed van zoogdierinstofwisseling op de onderzochte monsters na te bootsen wordt

Afb. 1 - Het effect van enkele organische elutiemiddelen op de mutagene opbrengst na elutie van tuinaarde.



Circa 5 gram aarde werd gedroogd, gehomogeniseerd en achtereenvolgens geëluëerd met 50 ml ether, aceton en methanol. De organische eluaten werden afgedampt en het residu werd opgelost in 2 ml DMSO en op mutageniteit getest in de Amestest.

een leverenzympreparaat, de zogenaamde S9-mix afkomstig van ratten, toegevoegd. Alle elutaten tot 0,50 ml werden in drievoud getest. De resultaten werden als mutageen aangemerkt als een duidelijke dose-response effect werd geconstateerd en het aantal revertanten tweemaal de blanco was. Diverse controles werden uitgevoerd om na te gaan of toxische effecten, (groei)stimulerende effecten, de aanwezigheid van histidine, het resultaat niet dermate beïnvloedde, dat een resultaat in de Amestest ten onrechte als mutageen werd beoordeeld.

Resultaten

Het effect van enkele grondsoorten en oplosmiddelen

Eerdere studies [7-10] waarbij naar mutagene activiteit in grond werd gezocht, toonde aan, dat een combinatie van dichloormethaan en fors homogeniseren of een soxhlett-extractie in staat was, mutagene verbindingen zoals polyaromatische koolwaterstoffen, fenol-achtige verbindingen en verbindingen afkomstig van olieraffinaderijen, in sterk verontreinigde grond te extraheren. Aangezien in dit onderzoek onverdachte grond was betrokken en mobilisatie (desorptie) van aanwezig organische

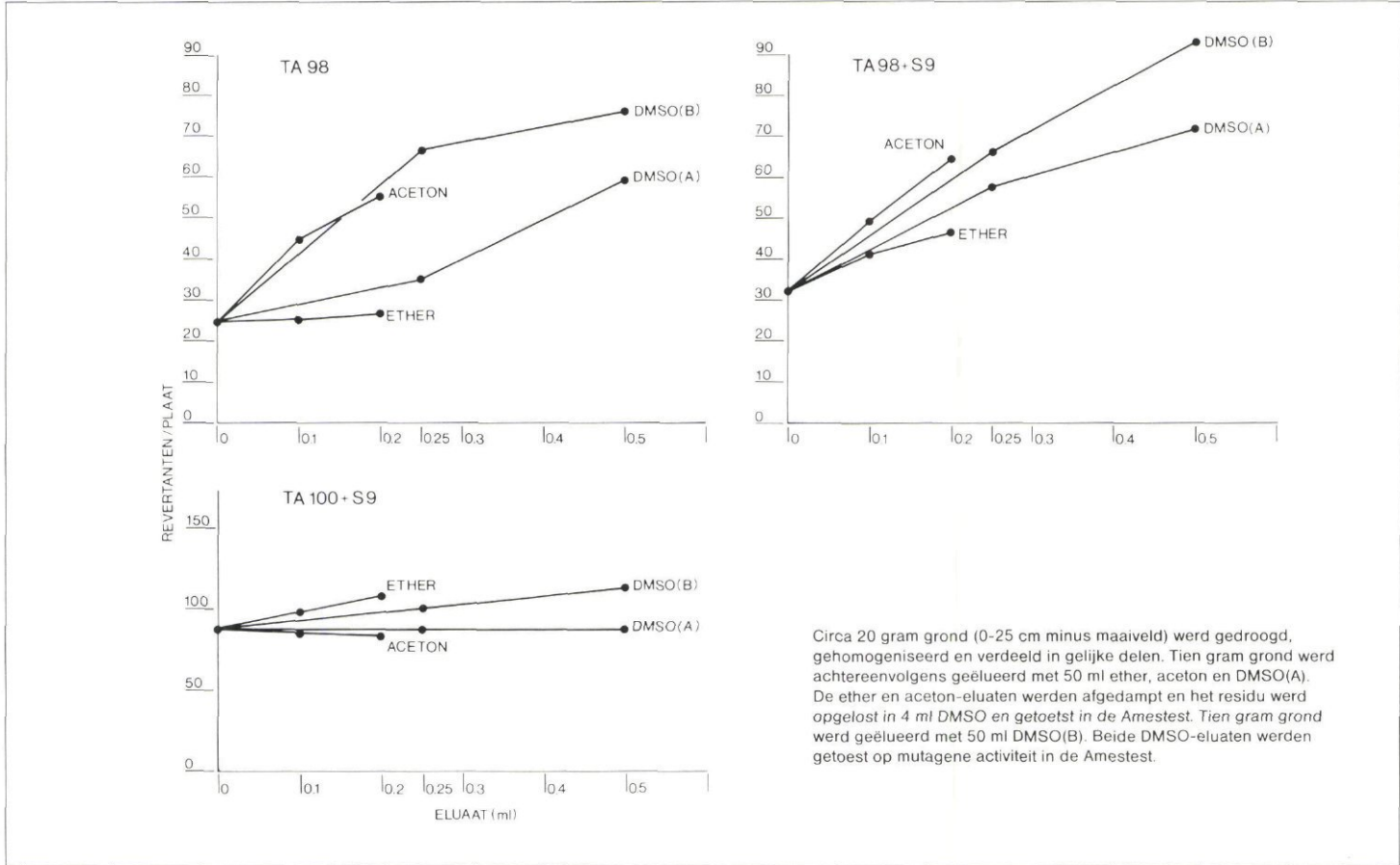
componenten in de grond onder meer natuurlijke omstandigheden dat wil zeggen veel mildere condities werd bekeken, werd een rigoreuze procedure als soxhlett-extractie niet uitgevoerd. Vroeger mutageniteitsstudies [6, 11-13] demonstreerden dat aceton en DMSO zeer effectief zijn in het elueren van mutagene organische verbindingen, die aan XAD-harsen zijn geadsorbeerd. Daarbij komt nog dat op grond van analytische-chemische studies, de bulk aan mutagene activiteit in Nederlands drinkwater zo goed als zeker niet veroorzaakt worden door polyaromatische koolwaterstoffen en andere olieachtige componenten afkomstig van olieraffinaderijen [1, 13].

Om deze redenen werd dan ook in een beperkt aantal experimenten aceton, diethylether(ether) en methanol in plaats van dichloormethaan als eluens toegepast op tuinaarde afkomstig uit de tuin van het RIVM te Leidschendam. De resultaten van deze elutie-experimenten is in afb. 1 weergegeven. Het bleek dat mutagene componenten met behulp van deze elutiemiddelen in tuinaarde konden worden aangetoond. Indien de mutageniteitsopbrengsten werden vergeleken, bleek, dat de hoogste

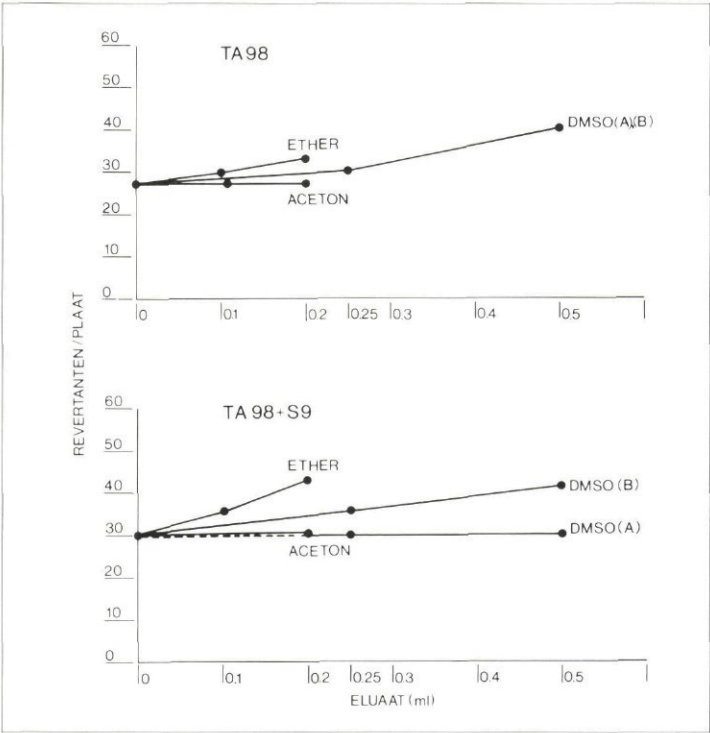
indirecte mutagene activiteit met stam TA98 en stam TA100, in de etherfractie werd aangetroffen. Er werd in geen der fracties directe mutagene activiteit met de stammen TA98 en TA100 aangetoond (niet weergegeven). De mutagene resultaten met de drie oplosmiddelen verkregen bij dit type grond bleek zeer reproduceerbaar te zijn en toonde aan dat ether een uitermate geschikt middel is om organische mutagene verbindingen van tuinaarde te elueren.

Vervolgens werd uitgeprobeerd of dit oplosmiddel eveneens in staat bleek te zijn mutagene verbindingen van andere grondtypen te elueren. Voor deze experimenten werden een tweetal Nederlandse zandgronden uitgekozen en een veengrond. Enkele karakteristieke veenmerken van de grondtypen zijn in tabel I weergegeven [14]. Op grond van eerdere ervaringen waarbij is gebleken, dat DMSO een zeer geschikt organisch oplosmiddel is om geadsorbeerde mutagene verbindingen van XAD-harsen te elueren [6, 11-13] werd dit oplosmiddel eveneens in dit onderzoek betrokken. De resultaten in de afb. 2 tot en met 4 tonen aan, dat DMSO, een standaard-oplosmiddel in vele toxiciteits- en

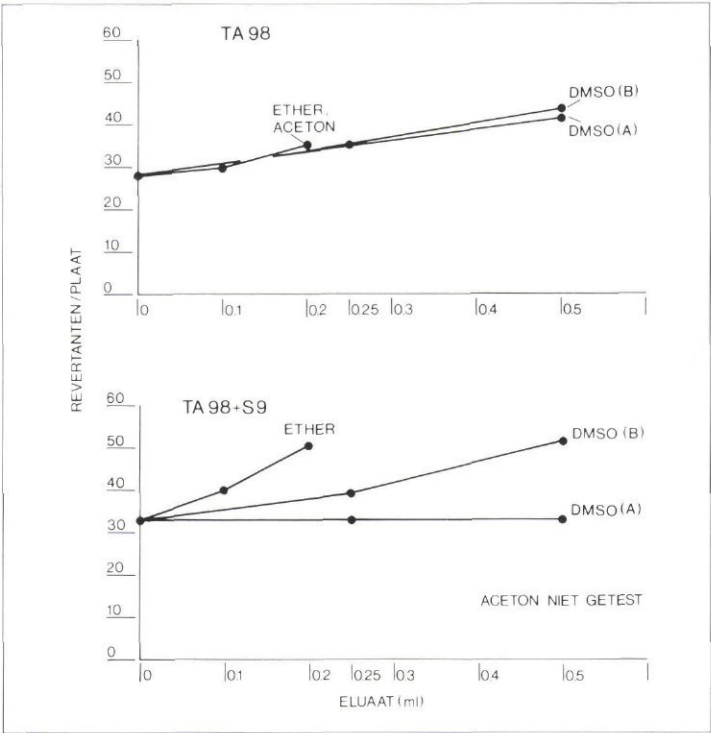
Afb. 2 - Het effect van enkele organische elutiemiddelen op de mutageniteitsopbrengst na elutie van een Enkeerdgrond.



Circa 20 gram grond (0-25 cm minus maaiveld) werd gedroogd, gehomogeniseerd en verdeeld in gelijke delen. Tien gram grond werd achtereenvolgens geëluëerd met 50 ml ether, aceton en DMSO(A). De ether en aceton-eluat werden afgedampt en het residu werd opgelost in 4 ml DMSO en getoetst in de Amestest. Tien gram grond werd geëluëerd met 50 ml DMSO(B). Beide DMSO-eluat werden getoetst op mutagene activiteit in de Amestest.



Afb. 3 - Het effect van enkele organische elutiemiddelen op de mutagene opbrengst na elutie van een Podzolgrond. Voor legenda zie afb. 2.



Afb. 4 - Het effect van enkele organische elutiemiddelen op de mutagene opbrengst na elutie van een Koopveengrond. Voor legenda zie afb. 2.

TABEL I - Enkele kenmerken van de gronden gebruikt in deze studie [14].

Type grond	Diepte (cm)	Organische stof (%)	Zand (%)	Lutum (%)	CEC ** meq/100 gr	pH (KCl)
Tuin aarde	0- 50	-*	-	-	-	-
Podzol	0- 30	1,5	-	-	-	-
	30- 60	0,5	89***	1***	1,4	4,1
	60-100	0,7			0,8	4,4
Enkeerd	0- 30	60-110	3,8		3,3	3,7
Koopveen	0- 30	20			39	5,1
	30- 60	61		29***	-	-
	60- 84	97			39	3,6

*- niet bepaald
**kation uitwisselings capaciteit
***percentage heeft betrekking op het totale monster grond

Werking en eigenschappen

Afgezien van bacteriën is het DNA in de meeste levende organismen gerangschikt in chromosomen. Menselijke chromosomen bevatten in principe voldoende DNA voor ongeveer een miljoen genen waarbij elk gen de drager is van een specifieke erfelijke eigenschap. Door de aanwezigheid van veelvuldig herhaalde DNA-volgorde ligt het werkelijke aantal genen bij de mens waarschijnlijk een stuk lager ($\leq 10^5$). Het DAN bestaat uit twee om elkaar gedraaide strengen (dubbele helix) die elk opgebouwd zijn uit vier verschillende structurele eenheden (nucleotiden) welke in wisselende, maar strikt vastgelegde, volgorde een zeer groot aantal malen voorkomen. De specifieke volgorde van de nucleotiden bepaalt de eigenschappen van het individu. Een mutatie is een verandering in de specifieke volgorde van de nucleotiden van het DNA, en een mutagene stof is een stof die een dergelijke verandering kan induceren. Men kan daarbij onderscheid maken tussen verschillende typen mutaties:

- a. gen- of puntmutaties zoals:
 - basepaar substitutie
 - frameshift
 - kleine deletie/insertie
- b. structurele chromosoom-afwijkingen zoals:
 - breuken
 - deleties
 - translokaties
- c. numerieke chromosoomafwijkingen zoals:
 - chromosoom nondisjunction (foutieve verdeling van de chromosomen over de geslachtscellen)

Een cel bevat ook mechanismen om de schade aan het DNA te repareren. Soms introduceren zij daarbij fouten die uiteindelijk als een mutatie herkend worden. Van de punt- of genmutaties kunnen door de Amestest alleen basepaar substituties (vervanging van een bepaald nucleotide door een ander) en frameshifts (het wegvallen of tussenvoegen van een of meer nucleotiden) aangetoond worden.

mutageniteitstoetsen, beduidend effectiever is in het elueren van mutagene activiteit met stam TA98 van zowel de beide zandgonden (afb. 2 en 3) als van de veengrond (afb. 4) dan ether en aceton. Bovendien is het duidelijk, dat in de meeste gevallen mutagene componenten slechts gedeeltelijk geëluëerd worden door aceton en ether, omdat na de laatste elutiestap met DMSO(A) fractie veelal nog mutagene activiteit wordt aangetroffen. Daarbij dient nog te worden opgemerkt dat in de Amestest getoetste componenten in ether- en aceton fracties op basis van volumereductie zo'n 12,5 keer meer geconcentreerd zijn dan de componenten in de DMSO(A) fractie.

Eveneens wordt duidelijk, dat indien de aceton als elutiemiddel qua mutageniteits-opbrengst wordt vergeleken met ether, afhankelijk van het type grond aceton of ether variërende opbrengsten geeft. In de ether-, aceton- en DMSO-fracties werden geen mutagene activiteit met stam TA100 aangetoond (niet weergegeven).

Het effect van percolatie van (regen)water op de mobilisatie van organische mutagenen De resultaten geven aan, dat grondelutie met DMSO en het testen van het DMSO-eluaat in de Amestest een relatief eenvoudige en sn

zoals bijvoorbeeld in waterwingebieden,

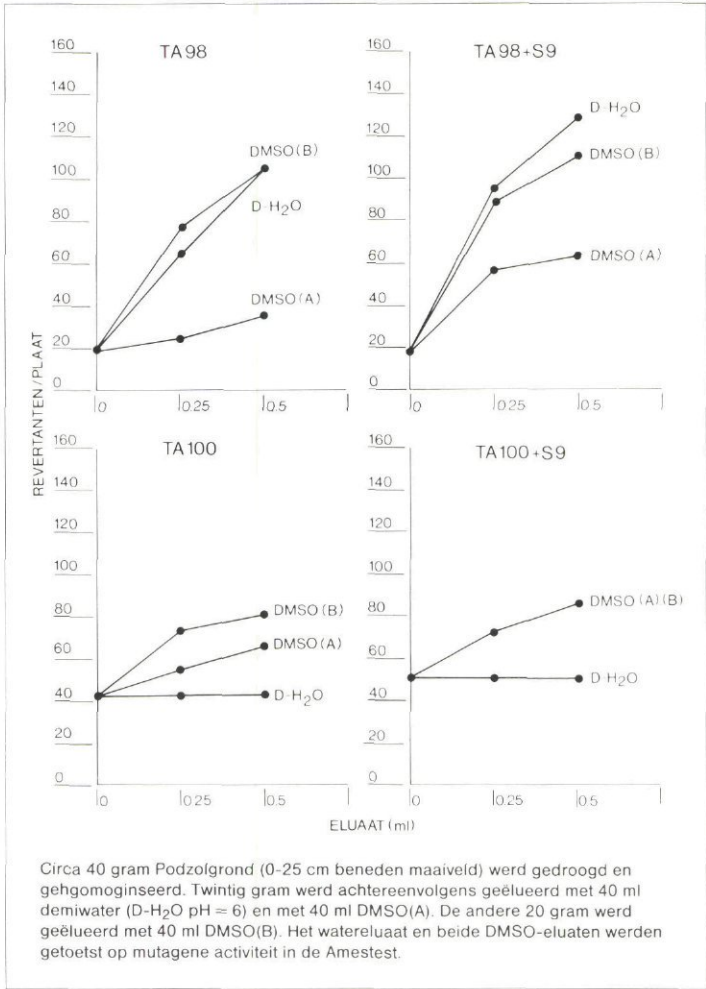
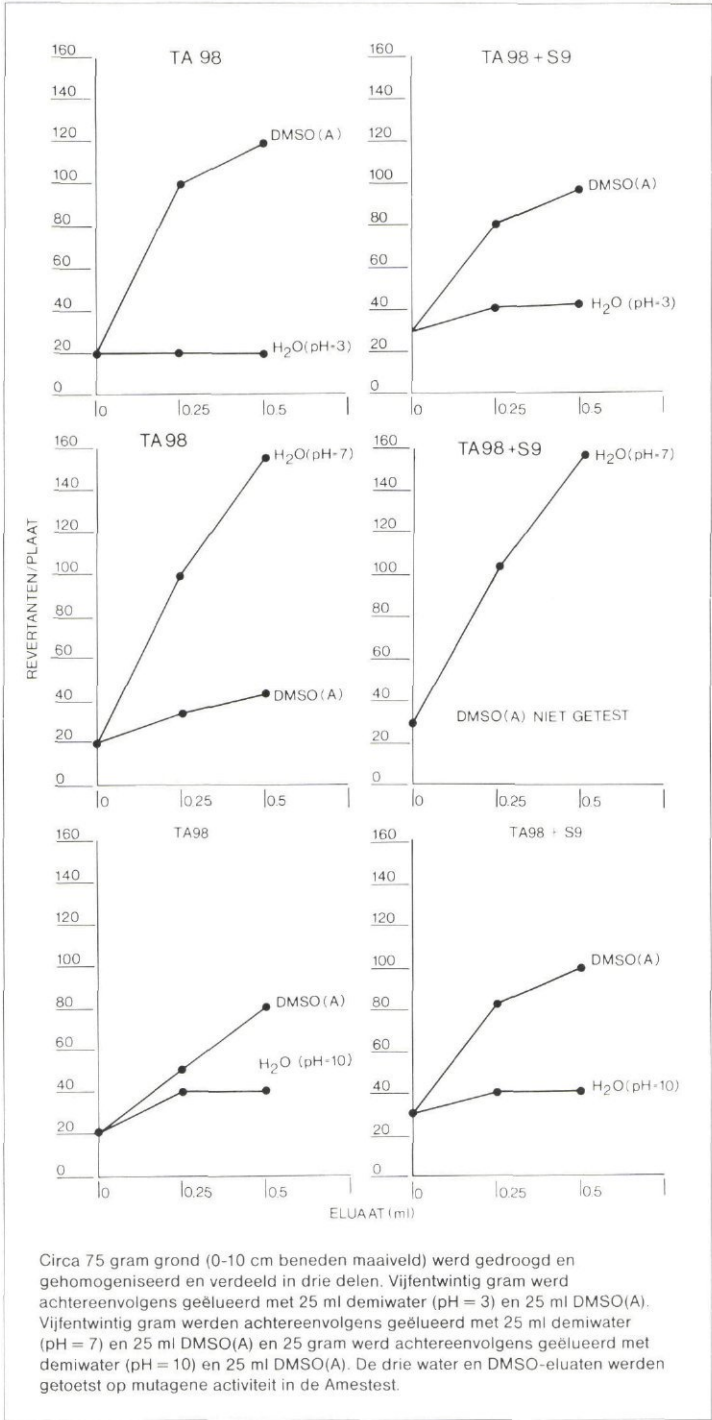
zal mobilisatie van organisch materiaal in de bodem voornamelijk plaatsvinden via percolatie van het regenwater. De opgeloste organische componenten zullen uiteindelijk via het regenwater de kwaliteit van het grondwater beïnvloeden. In Nederland wordt het grondwater dat als bron van drinkwater dient voor een groot deel bedekt door zand en lemlagen. Om deze reden werd dan ook nagegaan of (regen)water al of niet in staat is, organische mutagene verbindingen te elueren van zandgrond dat mutagene activiteit vertoonde in de DMSO-fractie.

De resultaten in afb. 5 geven aan, dat demiwater met een neutrale zuurgraad (pH = 7) in staat was het grootste gedeelte van de mutagene activiteit van de zand (eerd grond te elueren. Water van een pH = 3 en pH = 10 waren hiertoe niet in staat, hoewel er wel degelijk mutageniteit aanwezig was, getuige de activiteit in de DMSO-fracties. Er werd geen mutagene activiteit met stam TA100 waargenomen (niet weergegeven). Een onderzoek met demi- en regenwater bij een ander type zandgrond (podzol) gaf eenzelfde resultaat te zien namelijk mutagene

activiteit werd geëluëerd door water met een zuurgraad van pH = 6 (afb. 6 en 7). Op grond van de resultaten blijkt, dat de mutagene activiteit in de onderzochte zandgronden van een indirect type is (leverenzymen (S -9 mix) vereist), terwijl incidenteel verhoogde aantallen revertanten met stam TA100 werden aangetoond. Om na te gaan of mobilisatie van mutagene componenten in zandgrond een algemeen verschijnsel is en onafhankelijk van de bodemsamenstelling, werd vier maanden later eenzelfde elutie-experiment met monsters grond afkomstig van dezelfde locatie uitgevoerd. De monsters grond waren echter afkomstig van 30-60 cm beneden maaiveld in plaats van 0-25 cm zoals in de vorige experimenten. De resultaten in afb. 8 tonen aan, dat zowel demi- als regenwater niet in staat waren de aanwezige mutageniteit te elueren, hoewel er wel mutagene activiteit in de grond aanwezig was getuige de activiteit in de DMSO(A)-fracties.

Afb. 5 - Het effect van percolatie van water op het gedrag van mutagene verbindingen in een Enkeerdgrond.

Afb. 6 - Het effect van percolatie van water op het gedrag van mutagene verbindingen in een Podzolgrond.



Discussie

Onderzoek in Nederland naar de aanwezigheid van mutagene organische verbindingen in drinkwater dat bereid wordt uit grondwater toonde aan, dat voornamelijk indirecte mutagene activiteit met stam TA98 (Amestest) werd aangetroffen [1-3]. De aanwezigheid van dit type mutageniteit is zeer waarschijnlijk van natuurlijke oorsprong zoals in een eerder onderzoek is aangegeven [3], maar de bron van deze mutageniteit is niet bekend. Om deze redenen werd een onderzoek in de bodem verricht met het doel na te gaan of mutagene componenten in de bodem aanwezig zijn en indien ze aanwezig zijn of ze al dan niet gemobiliseerd kunnen worden door organische oplosmiddelen en met regenwater en op deze laatste wijze het grondwater kunnen bereiken. Het bodemonderzoek bracht aan het licht, dat mutagene componenten in een drietal grondtypen aanwezig waren en dat van de toegepaste organische elutiemiddelen DMSO het beste de mutagene activiteit van de grond elueerde (afb. 2-4). Daarom wordt dit organisch oplosmiddel

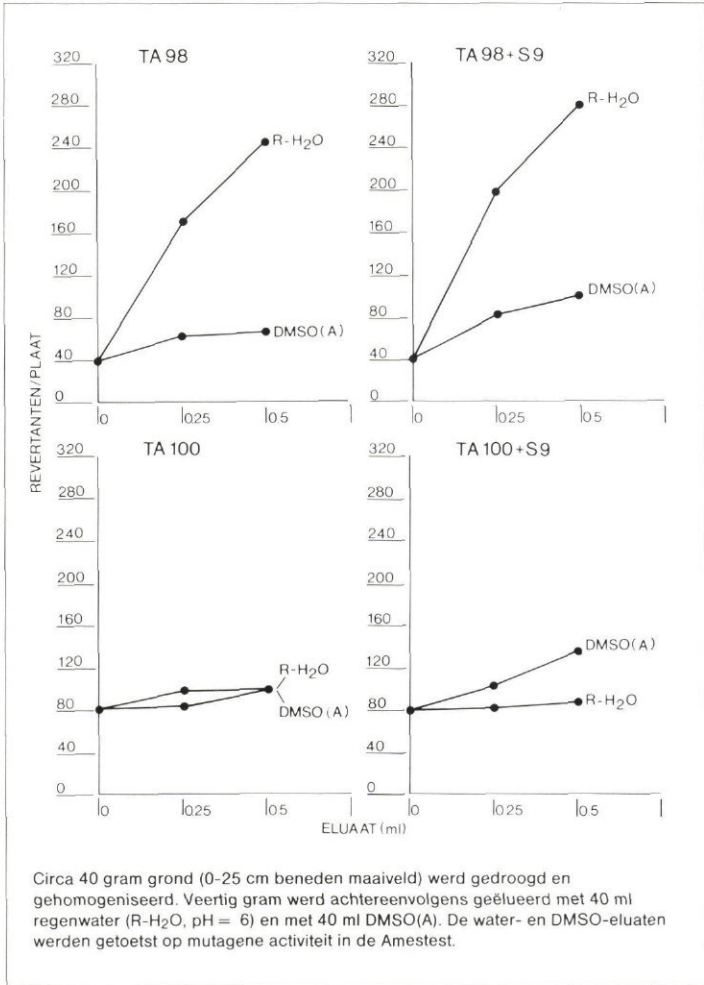
Basisprincipes van de Amestest

Ames en zijn medewerkers hebben in de Verenigde Staten een aantal stammen van de bacterie *Salmonella typhimurium* ontwikkeld, waarmee deze test wordt uitgevoerd. Zij introduceerden een aantal erfelijke eigenschappen in deze bacteriën (zoals grotere toegankelijkheid, ontbreken van een aantal herstelmechanismen en dergelijke), die deze bijzonder geschikt maken voor het aantonen van mutagene stoffen. De verschillende stammen reageren op verschillende soorten mutagene stoffen. Het gemeenschappelijk kenmerk van deze bacteriestammen is dat ze niet in staat zijn om zelf het voor de groei onmisbare aminozuur histidine aan te maken. Dit komt door opzettelijk aangebrachte specifieke puntmutaties in een der genen betrokken bij de biosynthese van histidine. Op een voedingsbodem zonder histidine kunnen deze bacteriën dan ook niet groeien. Elke bacterie echter, die door een of andere oorzaak een mutatie ondergaan heeft die hem in staat stelt om weer histidine aan te maken, zal een zichtbare kolonie vormen. Dit moet dan een mutatie betreffen waardoor de opzettelijk aangebrachte schade in het histidine-gen weer hersteld wordt. Zelfs in de afwezigheid van mutagene stoffen zal er altijd een beperkt aantal van deze kolonies worden waargenomen (spontane mutanten, meestal enkele tientallen per tien miljoen bacteriën). In de Amestest wordt een verbinding als positief mutageen aangeduid als bij een toenemende concentratie in de voedingsbodem een toenemend aantal kolonies wordt waargenomen, (dosis effect relatie) en dit aantal kolonies tenminste tweemaal zo groot is als het aantal spontane mutanten. Een aantal verbindingen vertoont pas een mutageen effect wanneer ze in het lichaam door de stofwisselingsenzymen zijn gemodificeerd. Dit geschiedt vooral in de lever. Om dit effect na te bootsen kan een zoogdierenlever-preparaat (S9-mix) aan de voedingsbodem van de bacteriën worden toegevoegd. De Amestest levert een snel resultaat op (binnen 2-4 dagen). Bovendien leveren gegevens van verschillende stammen en behandelingen informatie op over het werkingsmechanisme van de mutagene stoffen, bijvoorbeeld:

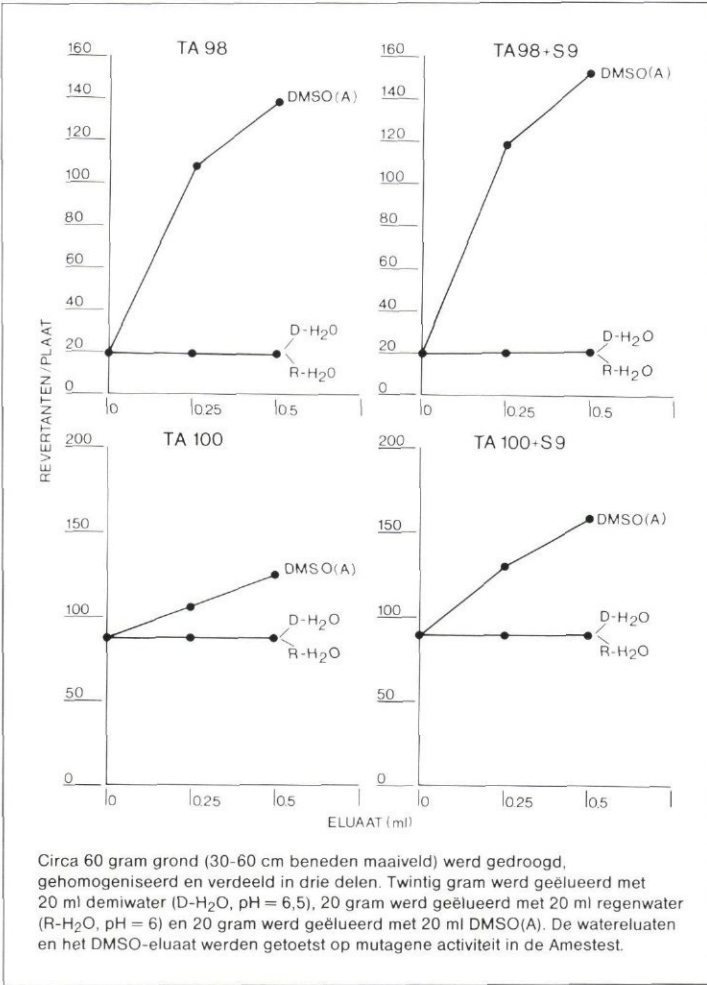
- direct of indirect mutagene stof (mutageen met of zonder activatie in de lever)
- type geïnduceerde mutatie (basepaar substitutie; frameshift).

In de Amestest wordt alleen gescreend op mutaties op de specifieke plaats van het histidine-gen. Een verhoogde mutatie-frequentie in de Amestest kan echter ook gezien worden als indicatief voor een verhoogde mutatie-frequentie in andere genen.

Afb. 7 - Het effect van percolatie van regenwater op het gedrag van mutagene verbindingen in een Podzolgrond.



Afb. 8 - Het effect van percolatie van water op het gedrag van mutagene verbindingen in een Einkeerdgrond.



Extrapolatie naar de mens

Het is op dit moment niet mogelijk om de resultaten van de verschillende screeningstesten in kwantitatieve zin te vertalen naar de mens en dus het gezondheidsrisico hieruit af te leiden. Zowel voor mutagene als carcinogene stoffen geldt dat factoren als opname, verdeling over organen, herstel-mechanismen, immunologische afweer en dergelijke bij de proeforganismen en de mens moeilijk te vergelijken zijn. Voor het carcinogene aspect van mutagene stoffen is het op basis van chronisch-toxiciteits-onderzoek met zoogdieren (bijvoorbeeld ratten dienen twee jaar te worden blootgesteld aan de te testen stof), mogelijk het gezondheidsrisico wel enigszins voor de mens te schatten [17].

Voor de overige aspecten van mutagene stoffen (met name erfelijke afwijkingen) is een schatting van het gezondheidsrisico voor de mens op dit moment een uiterst onzekere onderneming. Enerzijds omdat het schadelijke effect van een mutatie pas een of meerdere generaties later tot uiting kan komen, anderzijds omdat het effect van een mutatie op het nageslacht meestal niet voorspelbaar en bovendien vaak niet herkenbaar is.

aanbevolen als een eerste stap in het onderzoek om na te gaan of mutageniteit al of niet aanwezig is in de bodem. Het is een relatief eenvoudige procedure en men vermijdt een verdampingsstap, die nodig is indien met aceton of ether als elutie-middel gebruikt. Daarbij komt nog, dat in de Amestest een volume van circa 0,5 ml DMSO zonder problemen kan worden getest hetgeen niet mogelijk is met aceton en ether [12]. In het onderzoek is slechts een beperkt aantal organische oplosmiddelen onderzoek op hun mutageniteitsopbrengst. Het is dan ook aan te bevelen nader onderzoek te doen met betrekking tot andere organische oplosmiddelen en met betrekking tot het optimaliseren van de elutieprocedure. De resultaten verkregen in de percolatie-experimenten op de twee zandgronden met (regen)water, toonde aan dat het grootste gedeelte van de mutagene activiteit kon worden geëluëerd, indien de zuurgraad van het water 6 tot 7 bedroeg. De mutagene activiteit werd voornamelijk met stam TA98 (direct en indirecte activiteit aangetoond).

Het aantal revertanten met stam TA100 (na elutie met DMSO) werd veelal verhoogd in de onderzochte monsters grond maar voldeed niet aan het mutageniteitscriterium namelijk een verdubbeling van het aantal revertanten ten opzichte van de blanco. Herhaling van de percolatie-experimenten vier maanden later met demi-water en

regenwater en met 'verse' monsters grond afkomstig van dezelfde locatie maar van een andere diepte toonde aan, dat het water niet in staat was de mutagene componenten te mobiliseren hoewel er wel mutagene activiteit in de grond aanwezig was (afb. 8). Welk mechanisme voor dit verschillende sorptiegedrag van de mutagene componenten verantwoordelijk is, is niet bekend.

De percolatie-experimenten met water duiden er op dat de mutagene componenten meer een hydrofiel karakter hebben, in tegenstelling tot de componentverbindingen die alleen door DMSO en niet door water worden geëluëerd. In een experiment echter waarbij hexaan als eluentiemiddel werd gebruikt en waarbij alleen met betrekking van DMSO mutagene activiteit kon worden vastgesteld, werd in de hexaan-fractie geen mutagene activiteit aangetoond. Dit resultaat duidt er op dat mutagene componenten niet een te apolair karakter hebben.

Tenslotte tonen de percolatieresultaten aan, dat in zandgronden zowel directe als indirecte mutageniteit gemobiliseerd kan worden door regenwater en dat op deze manier de mutagene componenten het grondwater kunnen bereiken.

Anderzijds geven de latere resultaten aan, dat mobilisatie van mutagene componenten niet optreedt.

Beide resultaten zijn in overeenstemming met de mutageniteitsresultaten verkregen bij drink/grondwater onderzoek namelijk sommige grondwaters bevatten wel mutagene activiteit, andere niet.

Een discrepantie bestaat nog wel in het type mutageniteit dat in het grondwater wordt aangetoond, namelijk voornamelijk indirecte mutagene activiteit met stam

TA98 [1-3], terwijl in het percolatie water zowel indirecte als directe mutagene activiteit met stam TA98 aanwezig is (afb. 5-7). De afwezigheid van indirecte activiteit in het grondwater kan het resultaat zijn van bodemprocessen, die de directe mutagene verbindingen transformeren in indirecte mutagenen. Dit verschijnsel is namelijk al eens eerder waargenomen tijdens een onderzoek wte van oppervlaktewater in de duinen, werd nagegaan [15].

Dankbetuiging

De auteurs bedanken de heren W. Willemse en R. Ramlal voor de technische assistentie bij het onderzoek.

Literatuur

1. Kool, H. J., Kreyll, C. F. van and Oers, J. A. M. van (1984). *Mutagenic activity in drinking water in The Netherlands. A survey and a correlation study*. Toxicol. Environm. Chem., 7, 111-129.
2. Gaag, M. A. van der (1987). *Mutageniteit in grondwater in: Landbouw en drinkwatervoorziening, oriënterend onderzoek naar de beïnvloeding van de grondwaterkwaliteit door bemesting en het gebruik van bestrijdingsmiddelen*. Eindredactie: Ir. C. G. B. M. van Beek KIWA mededeling nr. 99, Rijswijk p. 10-1.
3. Kool, H. J. and Kreyll, C. F. van (1988). *Mutagenic activity in drinking water prepared from groundwater*. Sci. Total Environm., in pers.
4. Kool, H. J., Kreyll, C. F. van and Persad, S. (1988). *Mutagenic activity in groundwater in relation to mobilization of organic mutagens in soil*. Sci. Total. Environm., aangeboden ter publikatie.
5. Ames, B. N., McCann, J. and Yamasaki, E. (1975). *Mutagenicity tests, Methods for detecting carcinogens and mutagens with Salmonella/mammalian-Microsome*. Mut. Res., 31, 347-364.
6. Kool, H. J., Kreyll, C. F. van and Kranen, H. J. van (1981). *The use of XAD-resins for the detection of mutagenic activity in water. II Studies with drinking water*. Chemosphere, 10, 99-108.
7. Brown, K. W., Donnelly, K. C., Thomas, J. C. and Davol, P. (1986). *Mutagenic activity of soils*

Betekenis van een positief effect in de Amestest

Gaat men bij het beoordelen van de mutageniteit van een stof uit van een screeningstest zoals de Amestest en wil men de betekenis daarvan voor de mens proberen vast te stellen dan dient het onderzoek te worden uitgebreid [16].

Wetenschappelijk bezien betekent het positieve effect van een stof (of mengsel van stoffen) in de Amestest dat deze stof(fen) mutageen is (zijn) voor de *Salmonella-typhimurium*stam die voor de test gebruikt is. Dit betekent niet dat een dergelijke stof als een erkende mutagene (en mogelijk carcinogene) stof voor alle levende organismen aangemerkt mag worden. Men kan slechts, op basis van de universele structurele opbouw van het DNA bij alle levende organismen, stellen dat een dergelijke stof een potentieel mutagene stof is voor andere organismen. Een negatief resultaat in de Amestest zegt in feite alleen dat de onderzochte stof niet mutageen is voor het testorganisme. Dit sluit niet uit dat de stof wel mutageen is voor een ander organisme.

Men kan volgens de gezondheidsraad [16] pas spreken van een mogelijk mutagene stof voor de mens wanneer is aangetoond dat de desbetreffende stof mutageen is in twee van de drie vereiste (verschillende) testsystemen waarbij twee testsystemen met eukaryote cellen behoren te zijn.

Bacteriën, zoals *Salmonella typhimurium*, zijn zogenaamde prokaryotische organismen. Dit betekent dat het DNA vrij in de cel voorkomt en niet omgeven is door een kernmembran zoals bij alle hogere organismen. Eukaryoten bezitten alle een kernmembran en als zodanig een extra barrière die de mutagene stof moet overwinnen om het DNA te bereiken. Bovendien kunnen met de bacteriële testen niet alle vormen van genetische schade worden aangetoond. Afwijkingen in chromosomen (breuken enzovoort) en chromosoompatronen (nondisjunctie) bij hogere organismen kunnen met bacteriën niet worden aangetoond.

Natuur en Milieu: 'Kraanfilters deugen niet en testresultaten zijn misleidend'

- amended with two refinery wastes. *Water, Air and soil pollution*, 29, 1-13.
8. Maggard, L., Brown, K. W. and Donnelly, K. C. (1987). *The efficiency of two standardized procedures for extracting mutagenic chemicals from soils*. *Chemosphere*, 16, 1234-1255.
9. Donnelly, K. C. and Brown, K. W. (1981). *The development of laboratory and field studies to determine the fate of mutagenic compounds from land applied hazardous waste in: Land disposal hazardous waste* P. W. Schultz (ed.). *Proc. Seventh Annual Pres. Symp. EPA-600-9-81-0026*, 224-239.
10. Baty, C. J. and Perket, C. L. (1983). *Evaluation of technical limitations to determining organic contamination in subsurface soils in: Hazardous and industrial solid waste testing*, C. R. A. Conway and W. P. Guillede (eds.) *ASTM second symposium Spec. Techn. Publ.*, 805, 7-23.
11. Kreyll, C. F., Kool, H. J., Vries, M. de, Kranen, H. J. van and Greef, E. (1980). *Mutagenic activity in the rivers Rhine and Meuse in The Netherlands Sci. Total Environ.*, 15, 137-147.
12. Kool, H. J., Kreyll, C. F. van, Kranen, H. J. van and Greef, E. de (1981). *The use of XAD resins for the detection of mutagenic activity in water. I studies with surface waters*. *Chemosphere*, 10, 85-98.
13. Kool, H. J., Kreyll, C. F. van and Verlam-de Vries, M. (1987). *Concentration fractionation and characterization of organic mutagens in drinking water in: Organic pollutants in water: sampling analyses and toxicity testing* (I. H. Suffet and M. Malaiyandi Eds.) *Advances in Chemistry series no. 214*, 605-625, American Chemical Society Washington DC.
14. Loch, J. P. G., Kool, H. J., Lagas, P. and Verheul, J. H. A. M. (1986). *Removal and retention of volatile chlorinated hydrocarbons in the soils unsaturated zone in: Contaminated soils*, Eds. J. W. Assink and W. J. Brink. Martinus Nijhoff Publishers Dordrecht The Netherlands, 63-77.
15. Kool, H. J. and Kreyll, C. F. van (1984). *Formation and removal of mutagenic activity during drinking water preparation*. *Water Res.*, 18, 1011-1016.
16. Gezondheidsraad 1981. *Advies inzake mutageniteit van chemische stoffen*. Den Haag.
17. Gezondheidsraad 1978. *Advies inzake beoordeling van carcinogeniteit van chemische stoffen*. Den Haag.

Drinkwaterfilters voor kleingebruik deugen niet, zijn duur en overbodig, en testresultaten zijn misleidend. Dat blijkt uit de studie 'Schoon kraanwater: een troebele zaak', die de Chemiewinkel van de Rijksuniversiteit Utrecht in opdracht van de Stichting Natuur en Milieu heeft verricht.

De Stichting vindt dat de overheid de verkoop van drinkwaterfilters aan banden moet leggen. De verantwoordelijkheid voor de kwaliteit van het drinkwater moet in handen blijven van de waterleidingbedrijven. Wanneer het drinkwater niet voldoet aan de normen van het Waterleidingbesluit, dan moeten de waterleidingbedrijven onmiddellijk adequate maatregelen treffen. Het gebruik van kraanfilters draagt niets bij aan de oplossing van de drinkwaterproblematiek. De drinkwaterkwaliteit in de toekomst kan alleen worden gewaarborgd als er strenge, brongerichte maatregelen worden genomen.

Inspelen op bezorgdheid

Tegenwoordig zijn veel consumenten bezorgd over de kwaliteit van het drinkwater. Verkopers van waterfilters voor huishoudelijk gebruik spelen daar handig op in. Zij voeren daarbij misleidende reclamecampagnes voor actieve-koolfilters (f 70,- tot f 80,-), omgekeerde-osmose-apparaten (f 1.300,- tot f 1.900,-) en filterkannen (f 15,- tot f 150,-). De aanschaf van filters en membranen loopt in de papieren, aldus de Stichting. De tests waarop de bedrijven zich beroepen zijn zeer beperkt en de uit-

spraken over de zuiverende werking kunnen vrijwel nooit worden waargemaakt, zo blijkt uit de studie. De gebruiksaanwijzing van de meeste filter-systemen is volstrekt ontoereikend en eventuele neveneffecten van het gebruik van filters (ongezond sterke ontharding van drinkwater en bacteriegroei) worden verzwegen.

Verdroging

Bij toepassing van omgekeerde osmose neemt ook nog eens het waterverbruik sterk toe; drie à vier liter leidingwater per liter gefiltreerd water. Dat is zeer ongewenst in verband met de verdroging. Het is juist zaak het waterverbruik drastisch te beperken, aldus de Stichting Natuur en Milieu. Overigens vereist de aansluiting van kraanfilters een goedkeuring van het waterleidingbedrijf.

Gebrek aan controle

Een van de belangrijkste nadelen van de waterfilters noemt de studie het gebrek aan controle tijdens het gebruik. Als voorbeeld wordt genoemd de Amerikaanse firma Norelco, die van 1982 tot 1986 in totaal 354.000 actief-koolfilters verkocht die methyleenchloride aan het gefiltreerde water afgaven, een mogelijk kanker-verwekkende stof. Binnen een maand na het op de markt brengen van het filter was het bedrijf hiervan op de hoogte. Het heeft echter tot 1986 geduurd voordat Norelco, onder druk van een consumentenorganisatie en de Environmental Protection Agency EPA, het filter uit de handel nam.

CUWVO-interimrapport over waterverontreiniging bij stralen en conserveren verschenen

Door de geleidelijke sanering van de directe lozingen op oppervlaktewater en de indirecte lozingen op de riolering is het aandeel van de diffuse belasting van het oppervlaktewater relatief toegenomen. Eén van deze vormen van diffuse belasting is de waterverontreiniging als gevolg van het stralen en conserveren van mobiele objecten (schepen en dergelijke). Recent is besloten in het kader van CUWVO werkgroep VI onderzoek te doen naar deze problematiek en voorstellen te doen deze emissies naar oppervlaktewater terug te dringen. In de interimrapportage van de CUWVO wordt een algemene beschrijving gegeven van de problematiek en worden algemene aanbevelingen gedaan om deze waterverontreinigingsproblematiek bij de diverse bedrijfstakken (onder andere werven, specialistische bedrijven) aan te pakken. Deze interimrapportage zal eind

1989 gevolgd worden door een eindrapportage waarin onder meer resultaten worden opgenomen van uitgevoerd onderzoek naar (verdergaande) sanering van de emissies bij het stralen en conserveren van mobiele objecten.

Op grond van vorenstaande beveelt de CUWVO aan:

- de WVO-vergunningverlening thans reeds op te starten voor de werven en de gespecialiseerde bedrijven; in deze vergunningen zullen organisatorische maatregelen moeten worden voorgeschreven en zal als richtdatum voor verdere sanering 1-1-1991 moeten worden opgenomen;
- de WVO-vergunningverlening voor mobiele straalbedrijven te beperken tot uiterlijk 1-1-1991; in deze vergunningen zullen afschermende maatregelen moeten worden voorgeschreven; daarna zullen

deze bedrijven over een vaste werklocatie moeten beschikken.

- de WVO-vergunningverlening voor winterbergingen en jachthavens vooralsnog in het algemeen niet op te starten in verband met de veelal beperkte waterverontreinigingsproblematiek en de voorkeur voor regulering door middel van algemene regels (naar verwachting in 1992 na wijziging van de WVO). De CUWVO adviseert de betreffende waterkwaliteitsbeheerders bij de aanpak van de waterverontreinigingsproblematiek door het stralen en conserveren van mobiele objecten, het onderhavige interim-rapport en de daarop gebaseerde aanbevelingen als leidraad te hanteren. Extra exemplaren van dit rapport kunnen worden verkregen bij de Hoofddirectie van de Waterstaat, Postbus 20906, 2500 EX 's-Gravenhage, ter attentie van mw. I. Burgers (tel.: 070-74 40 97).