



Watermonsters zijn mengsels: ze bevatten veel stoffen die lang niet allemaal bekend zijn. Dat maakt het moeilijk om te achterhalen welke stoffen in het water gezondheidsrisico's of negatieve effecten op de ecologie kunnen geven. Effect Directed Analysis (EDA) biedt hiervoor een oplossing.

Waterschappen, Rijkswaterstaat en drinkwaterbedrijven gebruiken steeds vaker bioassays om de risico's van mengsels te onderzoeken. Een bioassay is een proef waarbij je kijkt of een stof of een mengsel effect heeft op een biologisch proces, bijvoorbeeld celdeling of de werking van een hormoon. Inmiddels kun je veel bioassays doen met bacteriestammen en cellijnen die specifiek reageren op chemische stoffen. De assays reageren dan op de actieve stoffen - zowel de bekende als de onbekende - in het water.

Met bioassays kunnen we dus zien of er stoffen in een monster zitten die aantoonbare en meetbare biologische effecten veroorzaken.

Recent is het EDA-platform beschikbaar gekomen. 'Effect Directed Analysis' (EDA) analyseert de effecten van mengsels en combineert daarbij bioassays en chemische methodes. Nieuw is dat het hiermee nu mogelijk wordt om effecten van onbekende stoffen vast te stellen en ze op naam te brengen. Het platform, eigenlijk een faciliteit binnen een laboratorium, is ontwikkeld door Het Waterlaboratorium (HWL) en de Vrije Universiteit met steun van de NWO. Binnenkort lanceert de KennisImpuls WaterKwaliteit (KIWK) een website voor waterbeheerders over bioassays en EDA (zie www.kennisimpulswaterkwaliteit.nl/).

Vier fases

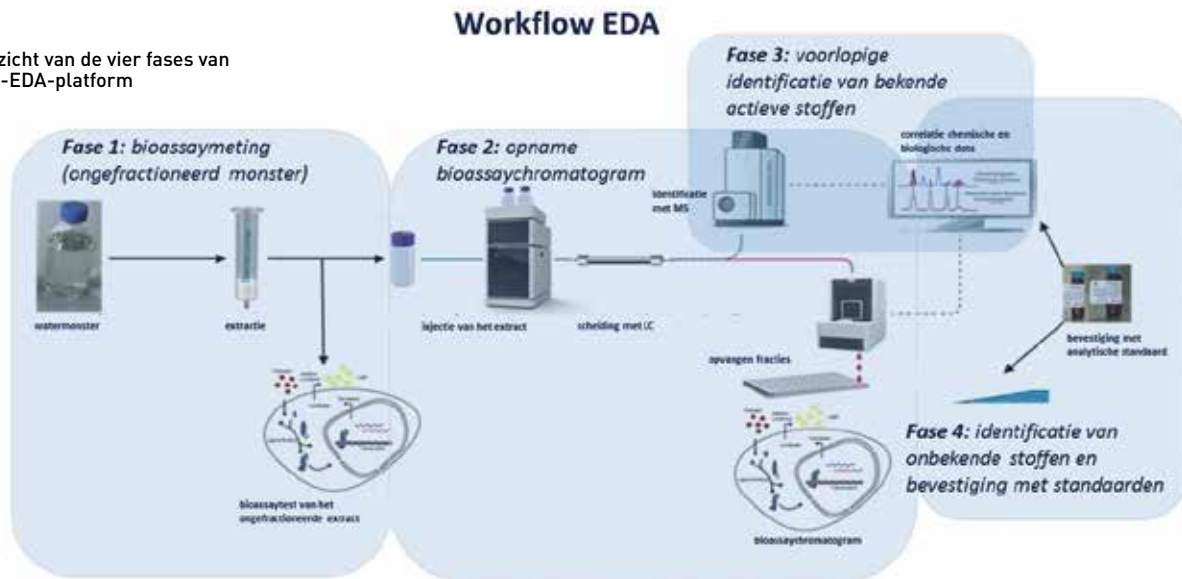
Het EDA-platform kent vier fases. *Fase 1* bestaat uit bioassays met watermonsters. Dit is de gangbare monitoring die al standaard wordt toegepast voor drinkwaterbedrijven. Zodra een bioassayrespons een grenswaarde overschrijdt, is er mogelijk een risico. Als de oorzaak onbekend is, start *Fase 2*.

In *Fase 2* worden de stoffen in het watermonster met chromatografie gesorteerd op polariteit en chemisch geanalyseerd met de massaspectrometer (MS). Daarnaast worden na de chromatografie 200 tot 300 kleine fracties opgevangen. Die worden getest in de bioassay(s) uit *Fase 1*. Dit levert informatie op over het aantal stoffen dat bijdraagt aan het waargenomen effect. Bovendien kunnen watermonsters onderling vergeleken worden, bijvoorbeeld voor en na waterzuivering. Als verdere identificatie van stoffen nodig is, start *Fase 3*.

Fase 3 is de voorlopige identificatie van bekende actieve stoffen. Van sommige stoffen is namelijk al bekend dat zij de waargenomen activiteit veroorzaken. Voor onbekende stoffen worden de chemische data (MS-data) uit *Fase 2* vergeleken met data in een stoffenbibliotheek. Als dat niets oplevert en de stoffen dus volledig onbekend zijn, wordt *Fase 4* gestart. In *Fase 4*, de meest arbeidsintensieve fase, wordt getracht door combinatie van de MS-data en de bioassay-data een molecuulstructuur voor de onbekende stoffen af te leiden. Als een stof is gevonden die het gemeten effect mogelijk heeft veroorzaakt, wordt deze in zuivere vorm aangeschaft en getest in de bioassay om te controleren of deze daadwerkelijk en in dezelfde mate het waargenomen effect geeft.

Inmiddels hebben we EDA vele malen succesvol toegepast. We bespreken enkele voorbeelden.

Schematisch overzicht van de vier fases van het hoge resolutie-EDA-platform



Hormoonverstoring

Voor Waternet onderzochten we in- en effluent van een rioolwaterzuivering op *androgene stoffen*: testosteron of stoffen met een vergelijkbare werking. In het influent vertoonden minstens vijf stoffen deze werking. In EDA-fase 3 en 4 werden er drie geïdentificeerd: testosteron zelf en twee andere mannelijke geslachtshormonen, androsteendion en dihydrotestosteron. Het effluent gaf alleen nog enige activiteit van androsteendion. De andere twee zijn dus in de RWZI verwijderd of afgebroken.

Een analyse voor drinkwaterbedrijf Dunea van water uit de Afgedamde Maas bracht *progesterogene activiteit* én de remming daarvan aan het licht; progesteron is het zwangerschapshormoon. De remmende werking (anti-progesterogeniteit) was echter veel sterker, en in Fase 3 en 4 bleken de fungiciden cyazofamid en epoxiconazool en de herbicide metolachlor hiervoor verantwoordelijk (allemaal landbouwbestrijdingsmiddelen).

Beschadiging van cellen

In oppervlaktewater in het beheergebied van waterschap Hunze en Aa's was *cytotoxiciteit* vastgesteld. Een cytotoxische stof beschadigt cellen, bijvoorbeeld door de celmembranen lek te maken. Fase 1 en 2 leverden twaalf mogelijke actieve stoffen op, waarvan er acht onbekend bleven. Van vier stoffen werd de cytotoxische activiteit met een zuivere standaard bevestigd in een bioassay. Dit waren het insecticide fipronil, fipronilsulfon (metaboliet van fipronil) en de fungiciden tebuconazool en epoxiconazool. De laatste zagen we ook al in het voorbeeld van de Afgedamde Maas, als anti-progesterogeen. De stof heeft beide werkingen, cytotoxiciteit treedt op bij een hogere concentratie. EDA is arbeidsintensief. Daarom is het EDA-platform mo-

dulair opgebouwd. Als een karakterisering van de chemische eigenschappen volstaat, kunnen waterbeheerders of drinkwaterbedrijven na hun reguliere bioassaymonitoring (Fase 1) volstaan met Fase 2. Als stoffen volledig bekend moeten zijn, kunnen ze ook Fase 3 en 4 laten uitvoeren. Vaak lukt het om met het EDA-platform actieve stoffen te identificeren, al blijven de nodige stoffen nog onbekend. De succeskans zal gezien de voortgaande ontwikkelingen nog stijgen.

Corine Houtman, Sanne Brekelmans, Tineke Slootweg
(Het Waterlaboratorium)

Een uitgebreide versie van dit artikel is te vinden op H₂O-Online. Het is te lezen door gebruik te maken van de QR-code of te kijken op www.h2owaternetwerk.nl (onder H₂O-vakartikelen).



SAMENVATTING

Bij watervervuiling is het moeilijk om te achterhalen welke stoffen in het water risico's voor de gezondheid of het waterleven kunnen geven. Dat komt doordat watermonsters mengsels zijn met veel verschillende, vaak onbekende stoffen. Eigenlijk is identificatie van stoffen én vaststelling van hun biologische activiteit nodig. Het EDA-platform maakt dit mogelijk, door bioassays en chemische analyses te combineren en is zo een krachtig hulpmiddel bij de duiding van milieu-effecten.