



Screening van hot spots van nieuwe verontreinigingen

Een pilot studie in bodem, grondwater en oppervlaktewater

Joost Lahr, Thomas ter Laak, Anja Derksen
m.m.v. de overige consortiumleden



ALTERRA
WAGENINGEN UR

Screening van hot spots van nieuwe verontreinigingen

Een pilot studie in bodem, grondwater en oppervlaktewater

Joost Lahr¹, Thomas ter Laak² en Anja Derksen³
m.m.v. de overige consortiumleden

¹ Alterra, Wageningen UR

² KWR Water

³ AD eco advies

Dit onderzoek is uitgevoerd door Alterra Wageningen UR, KWR Water en AD eco advies in opdracht van en gefinancierd door SKB (Stichting Kennisontwikkeling en Kennisoverdracht Bodem), de Provincie Noord-Brabant, de Provincie Utrecht, Waterschap Rivierenland, Waterschap Aa en Maas, STOWA en de Technische commissie bodem.

Alterra Wageningen UR
Wageningen, oktober 2014

Alterra-rapport 2538
ISSN 1566-7197

Lahr, J., T. ter Laak, A. Derksen, 2014. *Screening van hot spots van nieuwe verontreinigingen; Een pilot studie in de bodem, het grondwater en het oppervlaktewater*. Wageningen, Alterra Wageningen UR (University & Research centre), Alterra-rapport 2538. 88 blz.; 16 fig.; 14 tab.; 78 ref.

In 2013 heeft een consortium van diverse onderzoeksinstanties en stakeholders een pilotonderzoek uitgevoerd naar de aanwezigheid en mogelijke risico's van hormonen en geneesmiddelen in het systeem bodem - grondwater - oppervlaktewater. Centraal in de aanpak stonden casussen, gericht op een beperkt aantal relevant veronderstelde scenario's van potentiële verontreiniging met nieuwe stoffen. Type locatie, activiteiten/landgebruik, verontreiniging met specifieke stofgroepen en mogelijke ecologische of gezondheidsrisico's waren daarbij belangrijke aspecten. Op basis van deze uitgangspunten zijn vier pilotstudies gekozen. De nadruk lag hierbij in de meeste gevallen op het landelijk gebied. De bestudeerde stofgroepen zijn: natuurlijke hormonen, diergeneesmiddelen en humane geneesmiddelen.

Trefwoorden: nieuwe verontreinigingen, diergeneesmiddelen, humane geneesmiddelen, antibiotica, hormonen, CALUX assays, bodem, grondwater, oppervlaktewater

Dit rapport is gratis te downloaden van www.wageningenUR.nl/alterra (ga naar 'Alterra-rapporten'). Alterra Wageningen UR verstrekt geen gedrukte exemplaren van rapporten. Gedrukte exemplaren zijn verkrijgbaar via een externe leverancier. Kijk hiervoor op www.rapportbestellen.nl.

© 2014 Alterra (instituut binnen de rechtspersoon Stichting Dienst Landbouwkundig Onderzoek), Postbus 47, 6700 AA Wageningen, T 0317 48 07 00, E info.alterra@wur.nl, www.wageningenUR.nl/alterra. Alterra is onderdeel van Wageningen UR (University & Research centre).

- Overname, verveelvoudiging of openbaarmaking van deze uitgave is toegestaan mits met duidelijke bronvermelding.
- Overname, verveelvoudiging of openbaarmaking is niet toegestaan voor commerciële doeleinden en/of geldelijk gewin.
- Overname, verveelvoudiging of openbaarmaking is niet toegestaan voor die gedeelten van deze uitgave waarvan duidelijk is dat de auteursrechten liggen bij derden en/of zijn voorbehouden.

Alterra aanvaardt geen aansprakelijkheid voor eventuele schade voortvloeiend uit het gebruik van de resultaten van dit onderzoek of de toepassing van de adviezen.

Alterra-rapport 2538 | ISSN 1566-7197

Foto omslag: Joost Lahr

Inhoud

	Woord vooraf	9
	Samenvatting	11
1	Inleiding	15
	1.1 Achtergrond	15
	1.2 Doel van het onderzoek	16
	1.3 Leeswijzer	17
2	Methoden (algemeen)	18
	2.1 Monstername	18
	2.2 Analyses	18
	2.3 Toetswaarden & risicobeoordeling	19
3	Pilot 1 – Ontwormingsmiddelen in de paardenhouderij	20
	3.1 Locaties & methoden	20
	3.1.1 Locaties	20
	3.1.2 Monstername	21
	3.1.3 Metingen	21
	3.2 Resultaten	23
	3.3 Discussie & risico-evaluatie	23
4	Pilot 2 – Bagger op de kant	25
	4.1 Locaties & methoden	25
	4.1.1 Locaties	25
	4.1.2 Monstername	26
	4.1.3 Metingen	27
	4.2 Resultaten	27
	4.2.1 Biologische analyse	27
	4.2.2 Chemische analyses	28
	4.3 Discussie & risico-evaluatie	30
5	Pilot 3 - Infiltrerend afvalwater	32
	5.1 Locaties & methoden	32
	5.1.1 Locaties	32
	5.1.2 Monstername	32
	5.1.3 Metingen	34
	5.2 Resultaten	34
	5.2.1 Biologische analyses	34
	5.2.2 Chemische analyses	35
	5.3 Discussie & risico-evaluatie	37
6	Pilot 4 – Mestverwerkende installaties	39
	6.1 Locaties & methoden	39
	6.1.1 Locaties	39
	6.1.2 Monstername	42
	6.1.3 Metingen	43
	6.2 Resultaten	43

6.2.1	Mestverwerkende installaties	43	
6.2.2	Toepassing mineralenconcentraat op de bodem	49	
6.3	Discussie & risico-evaluatie	52	
7	Algemene discussie	56	
7.1	Hoe representatief is het onderzoek?	56	
7.2	Waren de monster- en meetmethoden adequaat?	58	
7.3	Vergelijking van de pilots	59	
7.4	Waar zijn er risico's?	60	
7.5	Beleid en maatregelen	61	
8	Algemene conclusies & aanbevelingen	64	
9	Literatuur	66	
	Bijlage 1	Monstermethoden	70
	Bijlage 2	Biologische analyses (CALUX)	71
	Bijlage 3	Chemische analyses	72
	Bijlage 4	Analysepakketten	74
	Bijlage 5	Afstemming gebruik monsters en extracten	77
	Bijlage 6	Drempelwaarden	80
	Bijlage 7	Steroidhormonen	86
	Bijlage 8	Massabalans MVI's	87



Provincie Noord-Brabant



Woord vooraf

Het voorliggende rapport is de eindrapportage van het SKB-project 'Screening van hot spots van nieuwe verontreinigingen in de bodem, het grondwater en het oppervlaktewater: het doorbreken van de vicieuze cirkel', project XX3006 binnen het SKB thema Ondergrond en Waterbeheer.

Het project is inhoudelijk gecoördineerd en gerapporteerd door drie onderzoekers:

- Joost Lahr (Alterra, Wageningen UR, penvoerder)
- Thomas ter Laak (KWR Watercycle Research Institute)
- Anja Derksen (AD eco advies, namens STOWA)

Het consortium bestond verder uit een aantal partijen dat als stakeholder deelnam en financieel heeft bijgedragen. Wij willen deze instanties en hun contactpersonen zeer hartelijk bedanken voor hun enthousiaste deelname. Zij waren nauw betrokken bij de totstandkoming en rapportage van het project en hebben de vorderingen nauwgezet en kritisch gevolgd:

- Sonja Kooiman (SKB)
- Jaap Harthoorn & Ton Vermeer (Provincie Noord-Brabant)
- Sandy Mensing & Janco van Gelderen (Provincie Utrecht)
- Ronald Gylstra (Waterschap Rivierenland)
- Wim van der Hulst (Waterschap Aa en Maas)
- Marlies ten Hove (Technische commissie bodem)
- Bert Palsma (STOWA)

Wij bedanken de leden van de klankbordgroep voor hun bereidwilligheid het concept-monsterplan en/of het concept-eindrapport door te nemen en van commentaar te voorzien:

- Monique van der Aa (RIVM)
- Joop Harmsen (Alterra, Wageningen UR)
- Paul Hoeksma (Livestock Research, Wageningen UR)
- Pim de Voogt (UvA, KWR Watercycle Research Institute)
- Dick Vethaak (Vrije Universiteit-IVM, Deltares)

Op 11 april 2014 werden de bevindingen van het onderzoek gepresenteerd op een goedbezochte themamiddag in Wageningen. De themamiddag is gerapporteerd door René Walenbergh. René heeft ook tekstmatig bijgedragen aan de samenvatting van dit rapport.

En als laatste veel dank aan de volgende mensen en instanties voor hun ondersteuning bij de locatiekeuze, het veldwerk, de monsternamen en/of de biologische en chemische analyses:

- Yvonne Verhagen-Boeren (ZLTO)
- Zes anonieme paardenhouders in Noord-Brabant
- Vier anonieme mestverwerkende bedrijven in Noord-Brabant
- John van Berne (Waterschap Aa en Maas)
- Baggeraars Groesbeek (Waterschap Rivierenland)
- Paul Witmer (Gemeente Heuvelrug)
- Martin de Jonge & Rob Breedveld (Vitens)
- Han Lensink (Gemeente Amersfoort)
- Maarten Schrama (NIOO)
- Paul Hoeksma & Fridtjof de Buissonje (Livestock Research, Wageningen UR)
- Harry Verstegen, Brigitte Kroonen-Backbier & Marc Kroonen (PPO, Wageningen UR, Vredepeel)
- Janjo de Haan (PPO, Wageningen UR, Lelystad)
- Tina Zuidema, Harry van Egmond & Linda Stolker (RIKILT, Wageningen UR)
- Harrie Besselink & Emiel Felzel (BioDetection Systems)
- Meindert de Graaff & Nanda Berg (KWR Watercycle Research Institute)
- Wim Dimmers, Popko Bolhuis, Maarten Noteboom & Steven Crum (Alterra, Wageningen UR)

Samenvatting

Aanleiding en opzet onderzoek

Onder nieuwe verontreinigingen verstaan we stoffen die nog niet of niet volledig zijn gereguleerd en waarvan de milieurisico's vaak onbekend zijn. Daarbij gaat het om stoffen als natuurlijke hormonen en hormoonverstorende stoffen (weekmakers, detergents, brandvertragers, e.d.), humane geneesmiddelen, diergeneesmiddelen, nanodeeltjes en microplastics. In de 'waterwereld' is altijd meer aandacht besteed aan de nieuwe verontreinigingen dan binnen andere beleidsvelden. In de bodem zijn de aanwezigheid en de mogelijke risico's grotendeels onbekend. De Technische commissie bodem (TCB) adviseerde in 2009 om te komen tot een prioritering van stofgroepen voor het bodemmilieu en uitvoering van een brede screening op percelen met verschillende functies (TCB, 2009).

De afgelopen twee jaar heeft een consortium onder de vleugels van SKB daarom een pilotonderzoek uitgevoerd naar de aanwezigheid en mogelijke risico's van hormonen en (dier)geneesmiddelen in het systeem bodem - grondwater - oppervlaktewater. Voor het onderzoeksprogramma zijn de volgende uitgangspunten geformuleerd:

- 'Meten is weten' staat aan de basis van het uitvoeren van een inventariserende screening;
- Systeembenadering: het oppervlaktewater, de bodem en het grondwater zijn onlosmakelijk met elkaar verbonden. Het gaat daarbij om een geïntegreerde blik die compartimentoverstijgend is;
- Risicobenadering: het onderzoek richt zich op 'hot spots', locaties met vermoede hogere gehalten aan nieuwe verontreinigingen. Daarbij worden stofgroepen geselecteerd met een mogelijk verhoogd risico voor mens en ecosysteem. Naast chemische analyses worden ook effectmetingen (bioassays) gebruikt. Indien mogelijk worden gehalten met risicodrempels vergeleken.

Centraal in de aanpak staan pilotstudies, gericht op een beperkt aantal relevant veronderstelde scenario's. Type locatie, activiteiten/landgebruik, verontreiniging met specifieke stofgroepen en mogelijke ecologische of gezondheidsrisico's zijn daarbij belangrijke aspecten. Op basis van deze uitgangspunten zijn vier pilotstudies gekozen. De nadruk ligt hierbij enigszins op het landelijk gebied. De bestudeerde stofgroepen zijn: natuurlijke hormonen, diergeneesmiddelen en humane geneesmiddelen.

Hieronder worden de resultaten van de pilots samengevat.

Gebruik van ontwormingsmiddelen in de paardenhouderij

In de professionele en recreatieve paardenhouderij worden veel ontwormingsmiddelen gebruikt. Daarbij gaat het vooral om ivermectine, een stof die giftig is voor (mest)insecten na toediening aan vee. Ivermectine is ook zeer giftig voor waterorganismen en persistent in de bodem en in sediment. Over de verspreiding van de middelen rond maneges en paardenpensions is weinig bekend. Via ZLTO (Zuidelijke Land- en Tuinbouworganisatie) zijn vijf Noord-Brabantse bedrijven geselecteerd waar jarenlang ontwormingsmiddelen zijn gebruikt. De bedrijven zijn éénmalig onderzocht op het voorkomen van ivermectine na een orale kuur met het middel (soms in combinatie met moxidectine). Het onderzoek had betrekking op mest, bodem, grondwater, sediment uit sloten en het oppervlaktewater van de sloten.

In geen van de milieumonsters is ivermectine of moxidectine boven de analytische kwantificatielimiet vastgesteld. Behalve voor water lag deze limiet onder de grens waarboven effecten verwacht worden en is er dus waarschijnlijk geen risico. Voor oppervlaktewater en grondwater is het risico niet helemaal uit te sluiten. De kwantificatielimiet lag weliswaar onder de ecosysteemdrempel van ca. 100 ng/L, maar er zijn ook aanwijzingen in de literatuur dat er effecten bij extreem lage concentraties kunnen optreden, zo laag dat de huidige chemische analysemethoden ontoereikend zijn om deze te meten. De paardenmest zelf bevat wel duidelijk toxische concentraties ivermectine. Daardoor is er sprake van een ecologisch risico van ivermectine in paardenmest gedurende enkele dagen na orale toediening, vooral voor insecten die op verse mest afkomen zoals vliegen en kevers.

Bagger op de kant

Het baggerslib nabij rioolwaterzuiveringsinstallaties (RWZI's), riooloverstortlocaties en in slibvangen bevat potentieel een breed scala aan nieuwe verontreinigingen. Baggerslib uit watergangen wordt in het waterbeheer vaak 'op de kant gezet'. Voor waterschappen en provincies speelt daarom de vraag of door het op de kant zetten van baggerslib residuen van onder andere geneesmiddelen in het grondwater terecht kunnen komen. De bestaande kennis om deze vraag te beantwoorden is niet afdoende.

In het kader van deze casus werd experimenteel bagger op de kant gebracht. Recente wetgeving beperkt het op de kant zetten van bagger in de buurt van RWZI's en overstorten. Deze bagger wordt vaak naar verwerkingsdepots gebracht. Daarom vond het onderzoek plaats bij een slibvang in de beek Leygraaf bij Groesbeek, enkele kilometers benedenstrooms van de RWZI Groesbeek. De slibvang is gebaggerd en de bagger ter plekke experimenteel op de kant gezet. Er werden gedurende twee maanden na het op de kant zetten in bagger, bodem en grondwater metingen verricht naar de aanwezigheid van enkele relevante groepen 'nieuwe' stoffen, geneesmiddelen (inclusief antibiotica) en hormonen, en naar hormoonverstorende effecten d.m.v. zogenaamde Chemically Activated Luciferase gene Expression (CALUX) assays.

Met het onderzoek is gevonden dat het slib op enkele kilometers van de lozing van de RWZI geneesmiddelen en hormonen bevat. Daarbij gaat het voornamelijk om persistente stoffen die sterk aan slib hechten. In de pilotperiode van twee maanden is geen verspreiding van de stoffen vanuit de sliblaag naar de bodem en het grondwater geconstateerd. De zomer van 2013 was echter erg droog waardoor er weinig percolatie kan hebben plaats gevonden. De verspreiding van de stoffen op langere termijn (langer dan twee maanden) is onbekend. Er zijn in overleg met het waterschap nieuwe metingen gepland. Ondanks dat er geen nieuwe verontreinigingen in de bodem en het grondwater werden gevonden, wees het onderzoek wel uit dat de gemeten concentraties stoffen in het slib dat nog in de watergang ligt mogelijk een risico vormen voor het waterleven.

Infiltrerend afvalwater

Voor provincies die verantwoordelijk zijn voor de bescherming van het grondwater als bron voor drinkwater is het van groot belang iets te weten over mogelijke risico's van die nieuwe stoffen voor het grondwater. Residuen van onder andere geneesmiddelen worden soms aangetroffen in het grondwater, maar de bestaande kennis hierover is beperkt.

Deze pilot richt zich op ongezuiverd afvalwater en rioolwater. Ongezuiverd afvalwater bevat vaak sporen van geneesmiddelen, persoonlijke verzorgingsproducten, huishoudelijke en industriële chemicaliën, biociden en hormonen. Ongezuiverd afvalwater kan in de bodem terecht komen door bijvoorbeeld lekkende riolen of als overstorten lozen op infiltrerend oppervlaktewater. In twee casussen zijn nieuwe verontreinigingen gemeten.

Bij de eerste casus is sprake van een lekkend riool in Amersfoort. Het riool stamt uit de jaren '30 en er zijn onder meer een groot ziekenhuis en een woonwijk op aangesloten. Het onderzoek is gericht op meting van geneesmiddelen, antibiotica, hormonen en hormoonverstoring (CALUX assays) in de bodem direct naast het riool en in diep grondwater (meer dan 20 meter diep) op ruim 100 meter van het riool.

In het diepe grondwater werden diatrizoïnezuur (röntgencontrastmiddel) en sulfamethoxazol (antibioticum) aangetroffen. De concentratie is echter kleiner dan de zogenaamde 'Threshold for Toxicological Concern' (TTC). De concentraties vormen daarom geen risico voor mensen. In de bodem bij het riool werd een lichte hormoonverstoring gemeten (anti-mannelijk), maar in het diepe grondwater was dit niet meetbaar.

De tweede casus m.b.t. infiltrerend afvalwater richtte zich op een andere situatie. Aan de voet van de Utrechtse Heuvelrug, bij Doorn, ligt een vijver op het terrein van het Militair Revalidatie Centrum Aardenburg. Op de vijver komt een riooloverstort uit. Het onderzoek in deze casus richt zich op de meting van geneesmiddelen, hormonen en hormoonverstoring in oppervlaktewater, in sediment en in ca. 1 m diep grondwater naast de vijver.

Het sediment bij de overstortvijver is licht verontreinigd met steroïdhormonen en humane geneesmiddelen. De concentraties zijn vergelijkbaar met die in de Nederlandse rivieren. Hierbij worden voor zover bekend geen effecten van individuele stoffen verwacht. De vrouwelijke hormonale (oestrogene) activiteit in het water overschrijdt echter de concept-norm van de Kaderrichtlijn Water (KRW) voor oestrogene stoffen op basis van de referentiestof 17 β -oestradiol (dit is een concept-norm omdat de EU 17 β -oestradiol vooralsnog niet op de KRW lijst met prioritaire stoffen heeft geplaatst). Ecologische effecten op het waterleven in de vijver kunnen daardoor niet worden uitgesloten. Verspreiding van de gemeten stoffen naar het grondwater lijkt beperkt omdat hierin geen van de gemeten stoffen is aangetroffen.

Toepassing in de landbouw van mineralenconcentraat uit mestverwerkende installaties

Mest afkomstig uit de intensieve veehouderij wordt steeds meer verwerkt in mestverwerkende installaties (MVI's). Daar wordt de mest gescheiden in fracties. Steeds vaker ook worden mineralenconcentraten ingezet als kunstmestvervanger. Omdat de mest dierlijke hormonen en restanten van diergeneesmiddelen zoals antibiotica bevat, zou dit een probleem kunnen vormen wanneer deze stoffen in het milieu terecht komen.

Om meer inzicht te krijgen in deze problematiek zijn twee casussen bekeken: één met betrekking tot mestverwerkende installaties zelf en één met betrekking tot toediening van het concentraat uit een MVI in het veld.

Voor de casus van de mestverwerkende installaties zijn eenmalig vier Noord-Brabantse MVI's (voor overwegend varkensdrijfmest) bemonsterd en metingen verricht in de drijfmest opslagtank, in de dikke fractie, in het mineralenconcentraat en in het permeaat (beoogd effluent). De analyses hadden betrekking op de concentraties antibiotica en natuurlijke hormonen en op de hormonale activiteit (CALUX).

Voor de veldaanpak is eenmalig als kunstmestvervanger een mineralenconcentraat (18 m³/ha) toegediend aan een akkerbouwperceel. Dit vond plaats in de maand juni op proefbedrijf Vredepeel van Wageningen UR. De monsternamen geschiedde twee dagen voor, twee weken na en twee maanden na toediening (en na een drainage-gebeurtenis in november). De monsternamen waren gericht op de bodem, het grondwater, de sedimentdrain en het drainagewater. De analyses waren hetzelfde als bij de MVI's.

Het onderzoek wees uit dat de varkensdrijfmest die de mestverwerking in gaat allerlei (natuurlijke) hormonen en antibiotica bevat. Deze stoffen komen bij verwerking vooral in de dikke fractie terecht en in het mineralenconcentraat. Het MVI-effluent bevat in drie van de vier MVI's geen noemenswaardige hoeveelheden activiteit en stoffen. Op één installatie werden echter vrouwelijke (oestrogene) steroïdhormonen en vrouwelijke hormonale activiteit gevonden. Deze concentraties waren hoger dan de KRW-conceptnorm voor oppervlaktewater. Alle installaties hanteren omgekeerde osmose ('Reverse Osmosis', RO) bij de scheiding van de fracties. Uit de verschillen in verontreinigingsgraad blijkt dus dat de efficiëntie van dit proces per installatie kan verschillen.

De resultaten voor het veld op het akkerbouwproefbedrijf Vredepeel laten zien dat er in de bodem en het grondwater slechts sporadisch hormonen en antibiotica gemeten worden, in concentraties dicht bij de kwantificatielimiet. Verder is er geen duidelijk verband tussen deze metingen en de toediening van het mineralenconcentraat. Dezelfde conclusie geldt voor het drainagewater en het sediment in de drain. Een kanttekening is echter dat het een erg droge zomer met nauwelijks regen was. Pas in november spoelde er water uit de drainagebuizen van het proefbedrijf. Ook in dit water werden echter geen hormonen, antibiotica en/of hormoonverstorende activiteit gemeten.

Algemene conclusies

In het rapport zijn de resultaten van vier pilotstudies beschreven waarin het voorkomen en de mogelijke risico's van geneesmiddelen en hormonen zijn onderzocht. In het algemeen lijkt het voorkomen van de stoffen in de onderzochte bodems en in het grondwater op basis van dit onderzoek mee te vallen.

Echter, in verschillende gevallen zijn geneesmiddelen en hormonen aangetroffen in de onderzochte bron zelf en zijn potentiële risico's niet uit te sluiten. Zo is de mest van met ontwormingsmiddelen behandelde paarden giftig voor mestinsecten en het slib dat in de slibvang stroomafwaarts van de RWZI Groesbeek ligt is verontreinigd, mogelijk zodanig dat het een risico voor het lokale waterleven vormt. Ook een overstort van rioolwater op een vijver in Doorn vormt mogelijk een risico voor waterorganismen door het voorkomen van humane geneesmiddelen en hormonen. Op een andere locatie werden in het grondwater in de buurt van een lekkend riool, waarop een ziekenhuis loosde, een röntgencontrastmiddel en een antibioticum gevonden. Deze laatste concentraties zijn weliswaar zo laag dat er geen risico's zijn voor de bereiding van drinkwater, maar de vondst is een duidelijk signaal dat waakzaamheid op dit soort plekken vereist is.

Het project gebruikte een 'hot spot' benadering. Er werd onderzoek gedaan op locaties waar de hoogste risico's verwacht werden. In enkele gevallen is aangetoond dat veronderstelde hot spots geen hot spots waren (paardenhouderijen, mineralenconcentraat). In andere gevallen bleek er wel sprake van een hot spot te zijn (slib in slibvang, overstort in vijver, grondwaterput bij lekkend riool). Voor de twee casussen waar een experimentele benadering werd gebruikt, wordt verder onderzoek aanbevolen, mede omdat de droge omstandigheden tijdens de experimenten uitzonderlijk waren: op de kant zetten van bagger uit genoemde verontreinigde slibvang en toepassing van mineralenconcentraat uit MVI's op akkers.

Er bestaat op dit moment bijna geen wettelijk kader voor (dier)geneesmiddelen en hormonen in het milieu. Met de normering van dit soort stoffen in water is men iets verder dan met de normering voor ander milieucompartimenten zoals mest, bodem en slib/sediment. Het verdient aanbeveling om voor de belangrijkste onderzochte stoffen normen en toetsingskaders te gaan ontwikkelen op basis van wetenschappelijk vastgestelde effectdrempels. In veel van de hier onderzochte gevallen is echter met simpele maatregelen ook al winst te halen: paarden tijdelijk op stal houden na een ontwormingskuur, procesvoering MVI optimaliseren (met name de omgekeerde osmose), geen bagger van risicolocaties op de kant zetten, oude overstortlocaties saneren en lekkende rioolstelsels aanpakken.

Misschien wel de belangrijkste conclusie van het onderzoek is dat monitoren in het milieu belangrijke kennis oplevert: 'meten is weten'. De vicieuze cirkel die ontstaat doordat men zonder meetgegevens van nieuwe verontreinigingen in het terrestrische milieu geen risico's kan aantonen, maar zonder aannemelijke risico's ook geen onderzoek en monitoring wenst te doen, is met dit pilot onderzoek weliswaar niet geheel doorbroken, maar er is wel een belangrijke eerste stap gezet.

1 Inleiding

1.1 Achtergrond

'Nieuwe verontreinigingen' zijn stoffen die niet of niet volledig zijn gereguleerd en waarvan de risico's in het milieu vaak onbekend zijn. Nieuwe verontreinigingen komen onder de aandacht doordat hun aanwezigheid in het milieu recent is aangetoond, het gebruik van de stoffen toeneemt of doordat de stoffen giftiger blijken dan eerder gesteld werd. Bekende groepen nieuwe verontreinigingen zijn hormoonverstorende stoffen van industriële oorsprong, natuurlijke en synthetische hormonen, humane geneesmiddelen en diergeneesmiddelen. Sinds de jaren '90 is binnen de Nederlandse waterwereld veel aandacht besteed aan de lotgevallen en risico's van deze stoffen en is een aantal aangemerkt als prioritaire stof in de Kaderrichtlijn Water (KRW). In tegenstelling tot het waterbeheer wordt binnen het bodembeheer nauwelijks aandacht aan nieuwe verontreinigingen besteed. Om deze reden is enkele jaren geleden een literatuurscan uitgevoerd naar het vóórkomen en de risico's van nieuwe verontreinigingen in het terrestrische milieu (Lahr, 2007a). Uit de rapportage blijkt dat er bij verschillende gebruiksscenario's risico's van nieuwe verontreinigingen kunnen ontstaan, maar dat er een groot gebrek is aan kennis m.b.t. aanwezigheid en gedrag van deze stoffen in bodem. Dit maakt de inschatting van het belang en risico's uiterst moeilijk. In een workshop met medewerkers van diverse ministeries en deskundigen van een aantal Nederlandse kennisinstituten werd deze conclusie onderschreven (Lahr, 2007b).

Naar aanleiding van het rapport en de workshop heeft de toenmalige Minister van LNV in 2008 advies aangevraagd bij Technische Commissie Bodem (TCB) over nieuwe verontreinigingen in het landelijk gebied. In haar rapport constateert de TCB (2009) onder meer dat het huidige stoffentoeelatingsbeleid geen garanties biedt om te voorkomen dat deze stoffen in het milieu en de bodem terecht komen, en dat er vrijwel geen resultaten bekend zijn van chemisch-analytisch veldonderzoek naar de aanwezigheid van nieuwe verontreinigingen in bodem waarmee het risico voor het ecosysteem en de mens kan worden afgeleid (uitzondering: SKB-onderzoek naar antibiotica; van Schijndel *et al.*, 2009). Op basis van 'expert judgement' concludeert de TCB dat de hoogste prioriteit ligt bij diergeneesmiddelen en desinfectanten en dat er eveneens een hoge prioriteit bestaat voor gewasbeschermingsmiddelen, geneesmiddelen voor de mens, oestrogenen actieve stoffen, brandvertragers, detergents en perfluorverbindingen. De TCB beveelt daarom aan om in het landelijk gebied 'op percelen met verschillende functies (bijvoorbeeld landbouw, natuur, maar ook percelen waar infiltratie plaatsvindt) een screenende monitoring uit te voeren van bodemmonsters om te bekijken welke stoffen daaruit als zorgwekkend naar voren komen'.

In haar reactie op het TCB-advies aan de Tweede Kamer laat de toenmalige minister van LNV echter weten het huidige toelatingsbeleid van stoffen afdoende te achten en in plaats van het signaleren van nog onbekende nieuwe verontreinigingen via aanvullende screenende monitoring te vertrouwen op bestaande monitoring van grondwater en oppervlaktewater in het kader van de Kaderrichtlijn Water (LNV, 2010). Met dit argument is de cirkel dus weer rond. De problematiek met nieuwe verontreinigingen in de wereld van het waterbeheer was immers precies de reden om ook meer aandacht aan de risico's van deze stoffen in de bodem te besteden.

Er zijn de afgelopen jaren echter diverse instanties geweest die de problematiek met nieuwe verontreinigingen in de bodem hebben onderkend. Het Planbureau voor de Leefomgeving wijst op de mogelijke effecten van hormoonverstoorders en (dier)geneesmiddelen in haar Natuur- en Milieubalansen van 2009 (PBL, 2009a, 2009b) en concludeert dat er voor deze stofgroepen in het milieu nog geen doelen zijn en dat er geen monitoring plaatsvindt. En in het vigerende Nationaal Waterplan 2009-2015 van de Ministeries van LNV, VROM en V&W (bij opstelling van het plan nog niet gefuseerd) valt het volgende te lezen: 'Als vangnet blijft het nodig regelmatig (monitoring)onderzoek te doen naar mogelijke (nieuwe) stoffen zoals geneesmiddelen of nanodeeltjes die mogelijk een probleem gaan vormen voor ecologie, humane gezondheid of drinkwaterbereiding.'

De laatste jaren vindt ook decentralisatie van de verantwoordelijkheden van de Rijksoverheid plaats. Daardoor komen steeds meer taken t.a.v. milieu, natuur, bodembeheer en grondwaterbeheer te liggen bij lagere overheden zoals provincies, waterschappen en gemeenten. De provincies moeten in het kader van de 'Gebiedsdossiers' bijvoorbeeld inventariseren wat de risico's van bovengronds landgebruik zijn voor het grondwater in en om grondwaterbeschermingsgebieden (Wuijts, 2010). De provincies zijn strategisch beheerder van het grondwater, maar omdat grondwaterlichamen onderdeel van het watersysteem uitmaken zijn de waterschappen operationeel grondwaterbeheerder en hebben de gemeenten binnen de beheertaak van de waterschappen een expliciete grondwaterzorgplicht (www.helpdeskwater.nl).

'Meten is weten' en dus 'Niet meten is niet weten': door een gebrek aan kennis over het voorkomen en het gedrag van nieuwe verontreinigingen blijven de daadwerkelijke risico's voor de bodem en haar ecosysteemdiensten onbekend. De kans bestaat dat, ondanks grote beleids- en beheersinspanningen om traditionele prioritair stoffen terug te dringen, bepaalde beleidsdoelstellingen t.a.v. duurzaam bodembeheer, grondwaterkwaliteit en biodiversiteit niet gehaald worden (TCB, 2009; PBL, 2009a, 2009b).

1.2 Doel van het onderzoek

Het doel van het huidige SKB-project 'Screening van hot spots van nieuwe verontreinigingen in de bodem, het grondwater en het oppervlaktewater: het doorbreken van de vicieuze cirkel' is om d.m.v. screening van nieuwe verontreinigingen in bodem, grondwater en oppervlaktewater kennis te vergaren over de aanwezigheid van nieuwe verontreinigingen in bodem. Het project beoogt handvatten te leveren voor toekomstig milieubeleid en -beheer t.a.v. deze stoffen in bodem, grondwater en oppervlaktewater. Door nu aandacht te besteden aan verontreinigingen waarover kennis ontbreekt, kunnen problemen in de toekomst worden voorkomen en wordt vermeden dat het oplossen van deze problemen naar toekomstige generaties wordt doorgeschoven. Er is een viertal pilot studies uitgevoerd gericht op de volgende verontreinigingsscenario's: (1) ontwormingsmiddelengebruik in de paardenhouderij, (2) bagger op de kant (3) infiltrerend afvalwater en (4) toepassing van een mineralenconcentraat uit de mestverwerking als kunstmestvervanger op de bodem. Het project is opgezet als een monitoringonderzoek. Op diverse geselecteerde locaties is een batterij aan chemische en biologische meetmethoden ingezet om te bepalen wat de concentraties, effecten en mogelijke risico's van bepaalde nieuwe verontreinigingen in diverse milieucompartimenten zijn. Het project kenmerkt zich door:

1. Een risicobenadering (o.a. gebruik bioassays, vergelijking analyseresultaten met drempelwaarden).
2. Een systeembenadering (verschillende milieucompartimenten worden in onderlinge samenhang bestudeerd).
3. Een getrapte opzet (de meest verontreinigde 'hot spots' uit een eerste biologische screening worden aan nadere chemische analyses onderworpen).

Ad 1)

Het projectvoorstel is ingevuld d.m.v. een risicobenadering. Risicolocaties zijn geselecteerd op basis van (historisch) landgebruik en de kenmerken van de locatie ('conceptual site model', zie Ad 3). De ingezette chemische en biologische analyses zijn toegespitst op de te verwachten verontreinigingen. De risicobenadering is als volgt gewaarborgd:

- Focus op stofgroepen waarvan een verhoogd risico voor mens of ecosysteem te verwachten is;
- Monsternamen op locaties waar verhoogde gehalten van deze stoffen worden vermoed ('hot spots');
- Vergelijking van de uitkomsten van het onderzoek met risicodrempels indien deze informatie bestaat (voor 'nieuwe' verontreinigingen uiteraard niet altijd het geval);
- Naast chemische analyses inzet van bioassay-technieken, waarmee (potentiële) effecten worden gemeten.

Ad 2)

De problematiek van de nieuwe verontreinigingen is bij uitstek geschikt voor een systeembenadering, waarbij niet alleen naar het compartiment bodem, maar ook grondwater en oppervlaktewater in acht

worden genomen. Immers, afhankelijk van de specifieke eigenschappen van de betreffende stoffen verdelen deze zich tussen deze compartimenten en worden zij al dan niet afgebroken. Het gebruik, de stofeigenschappen en de eigenschappen van het (bodem)systeem bepalen wie er last kan krijgen van de verontreinigingen. Dit kunnen terreineigenaren (zoals boeren), drinkwaterbedrijven of waterschappen zijn. Analoog hieraan zal ook de aanpak van eventuele probleemstoffen om een geïntegreerde benadering vragen waarbij de belangen van de verschillende veroorzakers en ontvangers van de problemen tegen elkaar afgewogen dienen te worden.

Ad 3)

Het onderzoek zelf is getrapt uitgevoerd. Globaal kunnen drie fasen worden onderscheiden: De eerste stap betreft de selectie van de meetlocaties. De monsterplekken zijn geselecteerd op basis van bij de uitvoerders en andere consortiumdeelnemers aanwezig kennis. Voorafgaand aan de monsternamen werd per locatie een 'conceptual site model' opgesteld. Dit is een korte, merendeels kwalitatieve beschrijving van eigenschappen als landgebruik, hydrologie, bodemkarakteristieken, aanwezige begroeiing en bebouwing, enz. Daarna zijn achtereenvolgens eerst biologische en/of chemische screeningsassays uitgevoerd. Ten slotte is op de meest verontreinigde of interessante plekken een nadere chemische analyse uitgevoerd.

1.3 Leeswijzer

Het voorliggende rapport is het eindrapport van het project. In Hoofdstuk 2 worden de algemene methoden beschreven. Details van de methoden staan in de bijlagen. In hoofdstuk 3 t/m 6 worden de vier pilots, de monsterlocaties en de resultaten van het onderzoek gepresenteerd met, waar mogelijk, een risicobeoordeling. In Hoofdstuk 7 worden vervolgens de bevindingen van het onderzoek in algemene termen bediscussieerd en in een kader geplaatst. Hoofdstuk 8 vat de belangrijkste conclusies samen en wordt met een aantal aanbevelingen afgesloten.

In de hoofdstuk 3 t/m 6 worden per pilot de resultaten gepresenteerd. Allereerst worden de resultaten van de biologische en chemische analyses samengevat. Omdat er veel parameters en/of stoffen zijn gemeten, worden alleen de positieve resultaten hier gerapporteerd, dus als een stof is aangetroffen of een effect is gedetecteerd. De ruwe gegevens hebben we niet opgenomen in dit rapport, maar deze zijn op aanvraag verkrijgbaar bij de auteurs. Per pilot wordt ook een ruwe inschatting gegeven van de mogelijke risico's op basis van de in Bijlage 6 gepresenteerde drempelwaarden en ranges aan eerder gevonden meetresultaten.

2 Methoden (algemeen)

Hieronder zijn de extractie- en analysemethoden per type monster beschreven. Details zijn te vinden in de Bijlagen.

2.1 Monstername

In deze studie zijn monsters genomen van oppervlaktewater, grondwater, bodem, sediment (ook wel slib of bagger genoemd), paardenmest, varkensmest en diverse verwerkte fracties van de varkensmest. De bemonstering, het monstermateriaal, het transport en de opslag van de monsters staat in meer detail beschreven in Bijlage 1. Kort samengevat zijn alle monsters genomen en bewaard in schoon glaswerk. Vloeibare monsters (oppervlaktewater, grondwater, en het concentraat en effluent van mestverwerker) zijn als zogenaamde 'steekmonsters' genomen. Bij het bemonsteren van grondwater zijn de gebruikte peilbuizen en pompputten van tevoren doorgespoeld. Bij het bemonsteren van vaste materialen (bodem, mest en sediment/slib/bagger) zijn monsters samengesteld uit minimaal vijf sub-monsters om eventuele heterogene verdeling van verontreinigingen in dit vaste materiaal te ondervangen. Alle monsters zijn gekoeld vervoerd (4°C) en bij langere opslag dan twee dagen in de vriezer geplaatst (-20°C) ter voorkoming van degradatie van de microverontreinigingen. Analyses zijn doorgaans binnen één en maximaal binnen vier maanden na de bemonstering uitgevoerd.

2.2 Analyses

De hormonale activiteit in de diverse monsters is bepaald met zogenaamde CALUX assays. CALUX assays kunnen de hormonale activiteit vaststellen van de stoffen in het aangeleverde monster en maken gebruik van een aangepaste cellijn. In dit geval een humane borstkankercellijn, waar een receptor is ingebouwd die gevoelig is voor een bepaalde groep van hormonen of stoffen met een hormonale werking. Als stoffen binden aan deze receptor vindt een serie van reacties plaats, met als uiteindelijk effect het uitzenden van licht. Hoe meer licht wordt uitgezonden, hoe meer hormonale activiteit het monster bevat. De geselecteerde receptoren voor dit onderzoek zijn: de oestrogene receptor (vervrouwelijking, ER-CALUX), de androgene receptor (waarbij zowel de vermannelijking als de anti-vermannelijking wordt gemeten, AR-CALUX en anti AR-CALUX), de progestagene receptor (zwangerschapshormoon, PR-CALUX) en de glucocorticoïde receptor (stresshormoon, GR-CALUX). Het effect wordt uitgedrukt in equivalenten van een referentiestof, bijvoorbeeld in equivalenten van het bekende vrouwelijke hormoon oestradiol bij de ER-CALUX. Deze assays zijn in meer detail beschreven in Bijlage 2.

In deze studie zijn diverse humane geneesmiddelen, veterinaire (en deels ook humaan gebruikte) antibiotica, hormonen en het anti-parasitaire middel ivermectine onderzocht. De stoffen zijn geselecteerd op basis van gebruiksgegevens en gegevens over het voorkomen in het milieu. De stoffen zijn na een extractieprocedure (m.u.v. humane geneesmiddelen in de waterige monsters, die zonder extractie zijn geanalyseerd) met behulp van vloeistofchromatografie gescheiden en met massaspectrometrische technieken geïdentificeerd en gekwantificeerd. Een uitzondering hierop is ivermectine dat na derivatie is geanalyseerd en gekwantificeerd met behulp van UV-spectrometrie. Details van de gebruikte methoden zijn gegeven in Bijlage 3, of in de daar geciteerde literatuur. In Bijlage 4 zijn de analysepakketten en de prestatiekenmerken van de diverse analyses weergegeven. Indien mogelijk is voor verschillende analyses gebruik gemaakt van dezelfde extracten. Het traject van monstername en analyse is per pilotonderzoek schematisch weergegeven in Bijlage 5.

Bij chemische analyses, en ook bij de CALUX assays, worden twee soorten limieten gehanteerd. Indien een stof (of CALUX effect) in het geheel niet wordt gemeten is de waarde beneden de detectielimiet van de methode. Het kan ook zijn dat de stof wel wordt gedetecteerd, maar in onvoldoende mate om een betrouwbare concentratie af te leiden, bijvoorbeeld als de concentratie buiten de calibratielijn valt. In dat geval wordt een iets hogere ondergrens gehanteerd, de zogenaamde kwantificatielimiet. Deze geeft het niveau waaronder de parameter niet meer betrouwbaar te rapporteren is. Daarom wordt deze ook vaak de rapportagegrens genoemd. Tenzij anders vermeld, hanteren wij in dit rapport de kwantificatielimiet als wij een waarde presenteren die 'kleiner dan' is (<...).

2.3 Toetswaarden & risicobeoordeling

Het aantreffen van een effect of een stof in een monster geeft informatie over hoe stoffen zich kunnen verspreiden in het milieu en wat mogelijke bronnen van deze stoffen in het onderzochte systeem zijn. De aanwezigheid van een stof of een gemeten effect vertelt echter niet direct iets over het risico voor mens en milieu. In Bijlage 6 wordt een overzicht gegeven van mogelijke toetsingskaders voor de stoffen en effecten die zijn onderzocht. Op deze manier wordt gepoogd de resultaten langs een maatlat te leggen of in ieder geval te kaderen. Het blijkt echter dat dit voor nieuwe stoffen of effecten van nieuwe stoffen niet gemakkelijk is. Het feit dat deze stoffen en effecten, zoals de titel van het onderzoek ook impliceert, 'nieuw' zijn betekent dat er geen wettelijke normen bestaan waaraan resultaten van het onderzoek kunnen worden getoetst. Wij zullen ons hier dan ook bedienen van zogenoemde streefwaarden, (voorlopige) drempelwaarden of literatuurgegevens om de relevantie van de resultaten een kader te geven.

3 Pilot 1 – Ontwormingsmiddelen in de paardenhouderij

Paarden in de paardenhouderij worden routinematig meerdere keren per jaar behandeld met ontwormingsmiddelen. Het bekendste en meest gebruikte middel is ivermectine. Deze stof wordt geheel met de mest uitgescheiden, maar is persistent in de mest en de bodem en giftig voor mestorganismen (Lahr *et al.*, 2007c, 2011), bepaalde bodemorganismen en aquatische ecosystemen (Boonstra *et al.*, 2011). De stof is matig oplosbaar en matig hydrofoob. Mede hierdoor is niet bekend in welke mate deze uitspoelt naar grondwater en lokaal oppervlaktewater. Echter, indien ivermectine in oppervlaktewater terecht komt, kan het middel volgens laboratoriumonderzoek al bij een duizendste nanogram per liter (!) een toxisch effect hebben op watervlooiën (Garric *et al.*, 2007). Ivermectine en aanverwante stoffen vormen mogelijk een probleem voor de bodemkwaliteit indien deze stoffen zich daar ophopen en het bodemleven (inclusief mestorganismen) aantasten. Bij uitspoeling zou al in geringe concentraties de ecologische waterkwaliteit kunnen worden bedreigd. In deze pilot is voor ivermectine gekozen omdat dit het meest gebruikte en het meest toxische middel tegen darmparasieten is. Omdat later bleek dat op de onderzochte bedrijven ook regelmatig moxidectine wordt gebruikt is deze stof ook in de metingen opgenomen.

Ivermectine wordt geanalyseerd in mest, bodem, het ondergelegen grondwater en het oppervlaktewater. Zo wordt geïnventariseerd of en hoe deze stof zich verspreidt in het milieu. Vervolgens worden de aangetroffen concentraties in de verschillende milieucompartmenten vergeleken met reeds bekende effectconcentraties voor organismen. Zodoende worden de potentiële ecologische risico's verkend.

3.1 Locaties & methoden

3.1.1 Locaties

Voor het kiezen van locaties zijn de volgende criteria opgesteld:

- Belasting bodems/percelen met paardenmest (dus bij paardenpensions, fokkerijen of maneges);
- Liefst langdurige gebruiksgeschiedenis van ivermectine;
- Informatie beschikbaar over gebruik van ivermectine (hoeveelheid en wanneer gebruikt);
- Zandgronden (waarin ivermectine relatief mobiel zou moeten zijn);
- Oppervlakkig grondwater (0-2 m), of peilbuizen aanwezig om dieper grondwater te bemonsteren;
- Aanwezigheid van sloten, beekjes of andere soorten oppervlaktewater naast belaste percelen.

De Provincie Noord-Brabant heeft als consortiumlid met paardenhouders, aangesloten bij de ZLTO, afgesproken dat hun bedrijven worden bemonsterd. In februari 2013 werden zes bedrijven bezocht. Deze bleken alle geschikt voor het onderzoek. Het uiteindelijk aantal bemonsterde bedrijven is vijf. De namen van deze bedrijven zijn bekend maar worden hier niet gegeven omdat met de paardenhouders is afgesproken dat er anoniem gerapporteerd zal worden. In dit rapport wordt daarom volstaan met een code.

Tijdens het bezoek aan de bedrijven is informatie verzameld over de bedrijfsvoering, gebruik van ontwormingsmiddelen en de omgeving. In Tabel 1 worden deze gegevens voor de vijf uiteindelijk bemonsterde bedrijven samengevat. Het aantal kuren met ontwormingsmiddelen varieert van twee tot vier keer per jaar. Alle bedrijven gaven aan jaarlijks één of meerdere keren ivermectine te gebruiken. De mest van kort na de kuren komt deels terecht in de weiden of paddock (zandbak) bij de paardenhouderijen (overdag), maar deels ook in de mestbakken (stalmest, 's nachts). Vanuit de

mestbakken wordt de mest afgevoerd en verspreid op akkers of geleverd aan champignontelers. Op twee van de vijf bedrijven blijven de paarden in principe enkele dagen op stal na ontworming.

Drie van de vijf bedrijven bevonden zich op zandige grond en twee op kleigrond. Rondom alle bedrijven lagen sloten. Drainage van de omliggende percelen verschilt sterk per bedrijf (Tabel 1).

3.1.2 Monstername

Het voorjaar van 2013 was extreem koud. Hierdoor zijn op de meeste bedrijven de paarden pas eind april naar buiten gegaan en heeft de eerste ontworming daarom ook later in het seizoen plaatsgevonden dan gangbaar is. In Tabel 2 wordt voor alle vijf geselecteerde bedrijven een overzicht gepresenteerd van de toegediende kuren en de monstername. De eerste kuren werden in maart en april toegediend. Op drie van de vijf bedrijven bestond de eerste kuur echter niet uit het doelmedicijn ivermectine, maar uit moxidectine, al dan niet gemengd met praziquantel. Om deze reden is op deze bedrijven na deze eerste ontworming geen bemonstering van de omgeving uitgevoerd. Op een ander bedrijf is wel ivermectine toegepast, maar bleven de paarden door de kou nog op stal. De mest kwam dus niet op de weide terecht. Ook dit bedrijf is daarom in het voorjaar niet bemonsterd. Bij Stal B is ontwormd terwijl de dieren wel de weide in gingen. Op vier andere bedrijven is later in het weideseizoen wel met ivermectine behandeld en hier zijn toen monsters genomen voor analyse.

De monstername op ieder bedrijf bestond in principe uit:

Mest:	1 mengmonster (2 dagen na behandeling)
Bodem:	2 mengmonsters (in 2 paardenbakken en/of weides)
Grondwater:	2 monsters (in 2 paardenbakken en/of weides)
Oppervlaktewater:	2 mengmonsters uit 2 sloten
Waterbodem:	2 mengmonsters uit 2 sloten

Twee dagen na behandeling werd een mestmonster van de mest genomen door de eigenaar en een maand later is de omgeving bemonsterd door een medewerker van Alterra. De standaard monstermethoden voor de verschillende milieucompartimenten is beschreven in Bijlage 1.

3.1.3 Metingen

Alle monsters worden geanalyseerd op ivermectine en moxidectine (zie Bijlage 3). Voor deze pilot werden in tegenstelling tot de andere drie pilots geen biologische parameters onderzocht.

Tabel 1

Geselecteerde bedrijven Pilot 1 Ontwormingsmiddelen in de paardenhouderij.

Bedrijf	Aantal dieren	Kuren per jaar	Formulering ivermectine kuren	Andere gebruikte middelen	Verblijf na ontworming	Speciale maatregelen?	Lot mest na behandeling	Mest afgevoerd?	Andere mest op weides?	Bodem	Grond-water	Drainage	Opper-vlakte-water
Stal A	30	2	Orale pasta	Pyrantel Praziquantel	Stal, weide	Paar dagen op stal	Mesthoop, weide	Nee	Onbekend	Klei	ca. 1.20 m	Ja	Slootjes langs weiden
Stal B	60	3-4	Orale pasta	Moxidectine	Stal, paddock, weide	Nee	Mesthoop, paddock, weide	Deel naar champignonweek	Runderdrijfmest	Zand	Ondiep	Ja, niet onderhouden	Slootjes langs weiden
Stal C	55	2-4	Vloeistof oraal	Pannemec	Stal, weide	Nee	Mesthoop, weide, akkerland	Deel naar champignonweek	Runderdrijfmest	Zand	< 2 m	Nee	Slootjes langs weiden
Stal D	35	3	Vloeistof oraal	Moxidectine Praziquantel	Stal, weiden	Paar dagen op stal, mest niet in weide	Mesthoop, akkerland	Nee	Runderdrijfmest	Zand	1-1,5 m	Ja, geheel	Slootjes langs weiden
Stal E	20-30	3	Orale pasta	Moxidectine Praziquantel	Stal, paddock, weide	Nee	Mesthoop, weide, akkerland	Deel naar champignonweek	Runderdrijfmest	Klei	0,70-1 m	Ja	Slootjes langs weiden

Tabel 2

Kenmerken ivermectine kuren en bemonsteringen Pilot 1 Ontwormingsmiddelen in de paardenhouderij. Alle datums zijn in 2013.

Bedrijf	Datum	Middel (merknaam)	Actieve stof	Aantal dieren behandeld	Paarden overdag	Mengmonster mest	Monstername omgeving
Stal A	do 11 juli	Equimectin	Ivermectine	10	Wei	za 13 jul	di 12 aug
Stal B	di 23 apr	Equest+Eraquell	Moxidectine+Ivermectine	>50	Wei	do 25 apr (10 paarden)	do 23 mei
Stal C	ma 24 jun	injectievl. oraal	Ivermectine	2 merries & 2 veulens	Wei	wo 26 jun (4 paarden)	ma 22 juli
Stal D	za 31 aug	Noromectin, oraal	Ivermectine	>20 paarden	Stal (2 dgn.), dan wei	ma 2 sep	ma 30 sep
Stal E	za 14 sept	Equimectin	Ivermectine	alle paarden, ±20	1/3 loopt buiten	ma 16 sep	vr 11 okt

3.2 Resultaten

De ivermectine gegevens werden gerapporteerd met detectielimiet en kwantificatielimiet. In de meeste monsters die zijn genomen in de omgeving van de paardenhouderijen één maand na ontworming is geen ivermectine of moxidectine aangetroffen. De gehalten lagen onder de detectielimieten van ca. 0,06 µg/L water en 0,3-0,8 µg/kg bodem of sediment (versgewicht; 0,4 – 1,4 µg/kg drooggewicht) voor beide stoffen.

In de mest van alle bedrijven is ivermectine gevonden (Tabel 3). In de Tabel worden de concentraties zowel op basis van versgewicht van de mest als op basis van drooggewicht gegeven om deze te kunnen vergelijken met drempelwaarden uit de literatuur (zie paragraaf 3.3 en Tabel B6-2 in Bijlage 6). Ondanks het feit dat alle mest op dezelfde dag na toediening is verzameld (na twee dagen) varieerden de gehalten nogal, van ca. 50 tot 1900 µg/kg drooggewicht voor ivermectine en van 23 tot 230 µg/kg d.w. ('dry weight') voor moxidectine. Dit kan samenhangen met het exacte tijdstip van monsternamen op de monsterdag, het voederregime van de paarden en de mogelijkheid dat bij de stalrest ook nog mest van onbehandelde dieren zat. Bij paardenhouderij A zijn tweemaal mestmonsters genomen. In het voorjaar werd veel meer ivermectine in de mest gemeten dan in de zomer, toen ook de omgeving is bemonsterd. Het soort behandeling was in beide gevallen hetzelfde (Equimectin 800 orale pasta).

In één bodemmonster en in twee sedimentmonsters werden ivermectine en/of moxidectine gedetecteerd. Deze gehalten zijn alle indicatief omdat ze weliswaar boven de detectielimiet maar onder de (verder niet exact gespecificeerde) kwantificatielimiet van de analysemethode liggen. Hier zijn dus spoorjes van de stoffen aangetroffen, maar kan hun exacte concentratie niet goed kon worden bepaald omdat de meting buiten het bereik van de ijkreeks viel (kwantificatielimiet).

Tabel 3

Concentraties ivermectine en moxidectine gemeten in vaste fase monsters van verschillende paardenhouderijen. Gehalten worden zowel uitgedrukt op basis van versgewicht ('fresh weight', f.w.) als drooggewicht (d.w.). Alleen de resultaten van monsters met gehalten boven de detectielimiet worden getoond.

Paardenhouderij	Medium	Ivermectine		Moxidectine	
		(µg/kg f.w.)	(µg/kg d.w.)	(µg/kg f.w.)	(µg/kg d.w.)
A	Mest (voorjaar)	49.34	258.35	4.43	23.18
A	Mest (zomer)	4.98*	23.03*	1.04*	4.83*
B	Mest	10.83	47.84	51.03	225.43
C	Mest	25.80	156.00	2.79*	16.90*
D	Mest	447.66	1901.04	1.38*	5.86*
E	Mest	68.15	305.59	3.60*	16.15*
B	Bodem 1	<0.33	<0.40	0.56*	0.67*
C	Sediment 2	1.45*	1.66*	1.77*	2.02*
D	Sediment 2	1.18*	1.73*	<0.28	<0.41

* Onder de kwantificatielimiet, maar boven detectielimiet.

3.3 Discussie & risico-evaluatie

De gehalten ivermectine die in de mest van de verschillende paardenhouderijen werden gevonden, waren in alle monsters groter dan de drempelwaarden waarboven men negatieve effecten op mestvliegen verwacht (EC50- en LC50-waarden 1-139 µg ivermectine/kg drooggewicht, zie Tabel B6-2 in Bijlage 6). De mest van Stal B is waarschijnlijk ook giftig voor mestkevers (overschrijding LC50-waarde 880-980 µg ivermectine/kg d.w.) en het valt niet uit te sluiten dat de mest van de andere paardenhouderijen eveneens effecten op mestkevers veroorzaakt (waarden soms dicht bij LC50-waarden).

De gemeten spoortjes ivermectine in bodem en sediment liggen alle ruim onder de waarden waarbij men effecten op bodemorganismen en sedimentbewoners zou verwachten (zie Tabel B6-2 in Bijlage 6, Toxiciteitswaarden lopen uiteen van 900 tot meer dan 300,000 µg ivermectine/kg d.w.) en dit geldt uiteraard ook voor alle metingen die beneden de detectiegrens lagen. De detectiegrens in bodem en water was dus voldoende laag om risico's naar alle waarschijnlijkheid uit te kunnen sluiten.

De gemeten concentraties ivermectine in oppervlakte- en grondwater lagen in alle gevallen onder de detectiegrens van ca. 0,06 µg/L oftewel 60 ng/L. Als deze detectiegrens vergeleken wordt met literatuurgegevens (Tabel B6-2, Bijlage 6), kan worden afgeleid dat acute effecten in oppervlaktewater op waterdieren (alf, watervlo, slak, tubifex) waarschijnlijk zijn uit te sluiten. De detectiegrens ligt onder de acute toxiciteitswaarden voor ivermectine. Chronische effecten zijn bij concentraties onder deze detectiegrens mogelijk. Er is een onderzoek gedaan door Garric *et al.* (2007) waarbij chronische effecten zijn waargenomen op groei en reproductie bij zeer lage concentraties, de 21-daagse 'Lowest Effect Concentration' (LOEC) in dit onderzoek was maar liefst 0,001 ng/L. Liebig *et al.* (2010) hebben op basis van dit onderzoek een 'Predicted No Effect Concentration' (PNEC) uitgerekend van 0,00003 ng/L (zie ook Smit en Wuijts, 2012). Deze waarden zijn veel lager dan de detectiegrens in dit onderzoek. Bij het onderzoek van Garric *et al.* (2007) moet worden aangetekend dat het om een nominale effectgrens gaat (berekend met de verdunningsreeks), dus deze is niet analytisch bevestigd (dit kan ook niet met de huidige opwerkings- en analysemethoden). Daarnaast zijn, voor zover ons bekend, deze bevindingen nooit bevestigd door andere onderzoeksinstellingen. Boonstra *et al.* (2011) deden onderzoek naar de effecten van ivermectine op planktongemeenschappen in modeecosystemen. In dit onderzoek was de gevonden effectdrempel voor ecosysteemeffecten 100 ng/L. Deze waarde ligt boven de detectielimiet van het huidige onderzoek waardoor dit soort effecten in de onderzochte oppervlaktewatermonsters niet waarschijnlijk zijn.

De detectielimiet in water van 0,06 µg/L is onder de humane trigger waarde van 0,1 µg/L (zie Bijlage 6). De triggerwaarde wordt in deze studie dus niet overschreden in grond- en oppervlaktewater.

Voor moxidectine werden geen geschikte drempelwaarden gevonden om de meetgegevens te toetsen.

Kort samengevat heeft deze studie uitgewezen dat op de vijf onderzochte bedrijven niet of nauwelijks ivermectine en moxidectine zijn gevonden in de bodems rond de paardenhouderijen en in de sedimenten van de omringende slootjes. Risico's van ivermectine in deze compartimenten zijn niet erg waarschijnlijk omdat de detectielimiet onder de gehanteerde drempelwaarden lag. Ook in oppervlaktewater en grondwater is geen ivermectine of moxidectine aangetroffen. De detectielimiet van ivermectine was kleiner dan een aantal drempelwaarden uit de literatuur. Hierdoor verwacht men geen acute effecten op waterdieren, geen ecosysteemeffecten en geen humane risico's. De detectielimiet was echter groter dan de in één onderzoek gevonden chronische effectconcentraties.

Het onderzoek heeft wel bevestigd dat door gebruik van ivermectine de mest van paarden in de paardenhouderij toxisch kan zijn voor mestvliegen en mestkevers. Indien deze mest buiten in de wei terecht komt, kunnen deze insecten negatieve effecten ondervinden. Dit bevestigt eerder onderzoek aan paardenmest door Lahr *et al.* (2007c, 2011). Het verdient de aanbeveling om te onderzoeken hoe lang de mest van paarden na orale toediening van ivermectine (en moxidectine) giftig blijft en op basis van deze bevindingen risicoreducerende maatregelen te nemen, zoals het enige tijd op stal houden van de dieren na behandeling en het afvoeren van de mest naar een geschikte afvalverwerker. Daarnaast zou wellicht onderzocht moeten worden in hoeverre ivermectine uit paardenmest in de champignonteelt terecht komt en of dit geen gezondheidsrisico's oplevert.

4 Pilot 2 – Bagger op de kant

De watergangen in Nederland moeten regelmatig worden uitgediept en de verzamelde bagger wordt regelmatig 'op de kant gezet'. Onder invloed van RWZI effluenten en riooloverstorten kan het sediment echter verontreinigd zijn met een breed scala aan organische verontreinigingen zoals geneesmiddelen, zoetstoffen, natuurlijke en synthetische hormonen, geurstoffen en detergents. Bagger in de directe omgeving van RWZIs en overstorten mag niet op de kant gebracht worden. De stoffen kunnen zich echter ook in het slib verder van de bronnen ophopen. Na het op de kant zetten kunnen deze stoffen uit de bagger in de bodem komen en uitspoelen naar het grondwater. Bovendien bestaan er systemen op hoger gelegen gronden waar overstorten direct op de bodem lozen. De sorptie van stoffen en de persistentie van stoffen in de (water)bodem bepalen in hoeverre deze stoffen zich in het systeem kunnen verplaatsen en dus in welk compartiment en in welke concentratie ze uiteindelijk voorkomen.

De verontreinigingen vormen een risico voor de grondwaterkwaliteit indien zij uitspoelen. De meer persistente stoffen die aan het slib hechten kunnen bij het op de kant zetten ook in de bodem langs de watergangen terecht komen en daar een bedreiging vormen voor de bodemkwaliteit (bodemleven en ecosysteemdiensten).

4.1 Locaties & methoden

4.1.1 Locaties

Voor het kiezen van locaties zijn de volgende criteria opgesteld:

- Recent gebaggerd (0-2 jaar geleden);
- Bagger moet ter plekke worden gebruikt (op de kant of op achtergelegen velden);
- Belasting van het betreffende oppervlaktewater met afvalwater moet hoog zijn, gemiddelde bijdrage van afvalwater bij voorkeur boven 50% bij mediaan debiet, maar in ieder geval niet lager dan 25%;
- Toepassing van bagger op zandgrond (indien mogelijk);
- Bij voorkeur wordt benedenstrooms enkele km na het effluentlozingspunt gemeten op een plek waar het water relatief stil staat (slibvang, verbreding), zodat het vaste materiaal kan bezinken.

Op basis van de bovengenoemde criteria zijn met behulp van diverse waterschappen in het midden en (zuid)oosten van het land, waaronder de consortiumleden WS Aa en Maas en WS Rivierenland, locaties gezocht. Er bleken nauwelijks locaties te voldoen aan de bovengenoemde criteria omdat het slib dat voldoet aan de criteria doorgaans niet op het achterliggende land wordt gebracht, maar in slibdepots wordt verzameld en verwerkt. Uiteindelijk zijn twee locaties bezocht, de Leygraaf bij Groesbeek (Waterschap Rivierenland) en de Teeffelense Wetering (Waterschap Aa en Maas). Bij bezoek aan de monsterlocatie Teeffelense Wetering bleek echter dat ook hier de bagger was afgevoerd naar een depot waardoor de locatie ongeschikt was voor het te bestuderen scenario. In overleg met Waterschap Aa en Maas en Waterschap Rivierenland is vervolgens besloten om de bemonstering van de Leygraaf bij Groesbeek uit te breiden. Uit onderzoek van WS Rivierenland in 2006 bleek dat de concentraties van de geneesmiddelen in het oppervlaktewater van de Leygraaf na lozing van de RWZI Groesbeek bijzonder hoog waren (informatie van Ronald Gylstra, Waterschap Rivierenland). Het sediment is toen echter niet onderzocht. In de volgende paragraaf staat de bemonstering van sediment, bodem en grondwater beschreven.



Figuur 1 Locatie naast de Leygraaf te Groesbeek waar de bagger op het land is gestort met peilbuis voor het bemonsteren van het grondwater.

4.1.2 Monstername

De slibvang in de Leygraaf nabij Groesbeek ligt enkele kilometers benedenstrooms van de RWZI van Groesbeek. Deze RWZI heeft een capaciteit van 28.000 inwoner equivalenten. Gedurende droge perioden bevat de Leygraaf voornamelijk gezuiverd afvalwater. In deze studie is op initiatief van Waterschap Rivierenland op experimentele wijze slib opgebracht en zijn het slib, de bodem en het grondwater een maal vóór (T0) en twee maal ná opbrengen (T1 en T2) bemonsterd om te kijken of stoffen uit het slib het oppervlakkige grondwater kunnen bereiken. Door de herhaalde bemonstering krijgt dit onderdeel naast het verkennende ook een experimenteel karakter.

In deze studie zijn de volgende monsters genomen. De standaard monstermethoden worden beschreven in Bijlage 1. Details van bemonstering staan in de samenvattende Tabel 4 van Pilot 2.

Slibslibvang:	1 mengmonster op T0
Bodem:	1 mengmonster per locatie op T0, T1 en T2
Grondwater:	1 monster per locatie op T0, T1 en T2

Tabel 4

Samenvattende Tabel monsternamen Pilot 2 Bagger op de kant.

Locatie	Datum	Monstertype	Opmerkingen
Groesbeek	3 mei 2013 (T0 - 2 wkn vóór slibdepositie)	Slib uit slibvang	Samengesteld monster van 5 sub-monsters van 0-10 cm diep slib uit slibvang
		Grondwater op baggerlocatie	Peilbuis geslagen. Oppervlakkig grondwater 50 cm onder grondwaterspiegel bemonsterd (op 1,5 meter diepte)
		Bodem op baggerlocatie	Samengesteld monster van 5 submonsters rondom peilbuis (5-15 cm diepte)
	17 mei 2013	Bagger op de kant gebracht	Ongeveer 50 m ² bagger in een laag van ongeveer 15 cm dik is om de peilbuis gedrapeerd (zie foto in Fig. 1)
	31 mei 2013 (T1 - 2 wkn na slibdepositie)	Grondwater op baggerlocatie	Oppervlakkig grondwater bemonsterd (50 cm onder grondwaterspiegel)
		Bodem op baggerlocatie	Samengesteld monster van 5 submonsters rondom peilbuis onder de opgebrachte bagger. De bovenste laag bodem onder de bagger is verwijderd om de bodem te kunnen bemonsteren zonder het met de bagger te contamineren (5-15 cm diep, onder de bagger)
	12 juli 2013 (T2 - 8 wkn na slibdepositie)	Grondwater op baggerlocatie	Oppervlakkig grondwater bemonsterd (50 cm onder grondwaterspiegel)
		Bodem op baggerlocatie	Samengesteld monster van 5-10 submonsters rondom peilbuis onder bagger

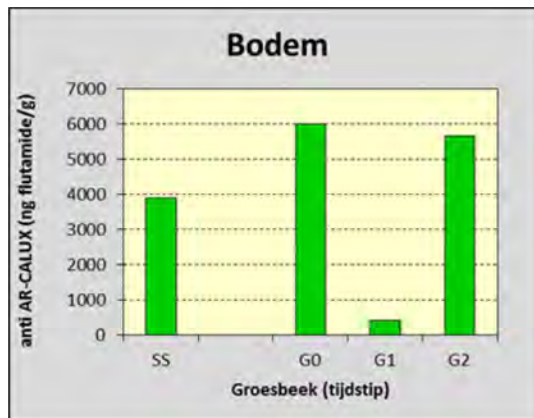
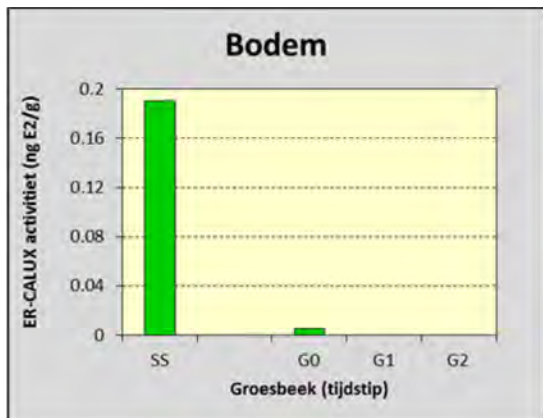
4.1.3 Metingen

In deze studie zijn biologische CALUX assays (ER, AR, GR, PR en anti-AR) en chemische antibiotica analyses uitgevoerd op alle monsters. In een selectie van de monsters zijn humane geneesmiddelen en hormonen bepaald.

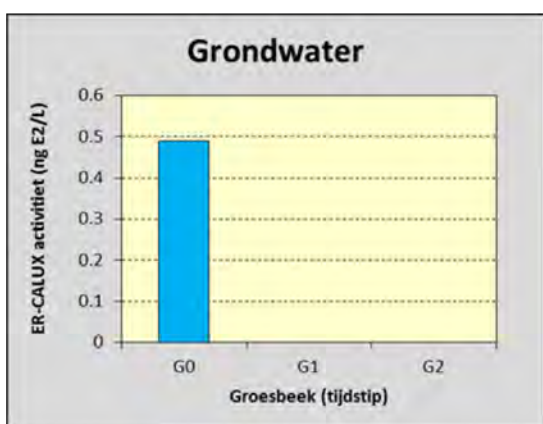
4.2 Resultaten

4.2.1 Biologische analyse

Op de locatie Groesbeek zijn sediment uit de slibvang, bodem en grondwater bemonsterd. De onderzoeksvraag in deze pilot studie was of stoffen (en de activiteit van deze stoffen) aanwezig in het slib van de slibvang, na het op de kant zetten van het slib, in de bodem en het oppervlakkige grondwater terecht komen. De aangetroffen responsen in de CALUX-assays zijn weergegeven in Fig. 2 en Fig. 3. In het slib (aangegeven met SS) en de bodemmonsters (aangegeven met G0, G1 en G2) zijn oestrogene (ER) en antiandrogene (anti-AR) responsen waargenomen (Fig. 2), in het grondwater alleen oestrogene (Fig. 3).



Figuur 2 Aangetroffen ER-CALUX (links) en anti AR-CALUX (rechts) responsen in het slib van slibvang (SS) en in de bodem vóór (G0), 2 weken na (G1) en 8 weken na (G2) opbrengen van het slib.



Figuur 3 Aangetroffen ER-CALUX responsen in het grondwater vóór (G0), 2 weken na (G1) en 2 maanden na (G2) het opbrengen van het slib.

Het blijkt dat het slib een veel hogere ER-CALUX respons (vervrouwelijking) geeft dan de monsters van de bodem. Het opbrengen van bagger op de kant zorgt er dus voor dat materiaal met daarin stoffen die de werking hebben van vrouwelijke hormonen op de bodem wordt gebracht. Het is interessant te zien dat dit niet het geval is voor de anti AR-CALUX waar de responsen in bodem variabel maar tevens vergelijkbaar zijn met de respons aangetroffen in het slib. In grondwater is slechts één maal een (lage) ER-CALUX respons aangetroffen. Dit was voordat het slib is opgebracht. Hoewel het slib dus veel hogere ER responsen genereert dan de bodem, lijkt het er niet op dat deze stoffen gedurende het experiment in de onderliggende bodem of het grondwater terecht komen. Waarschijnlijk zijn deze stoffen binnen de duur van het experiment niet mobiel genoeg om in bodem en grondwater terecht te komen. Het is bekend dat oestrogene hormonen en stoffen met deze werking relatief slecht oplosbaar zijn en sterk aan organisch materiaal in bijvoorbeeld slib kunnen binden (Yu *et al.*, 2004). Hierbij moet worden aangetekend dat de lente en zomer van 2013, ten tijde van het experiment, erg droog waren.

4.2.2 Chemische analyses

In Tabel 5 zijn de gemeten antibiotica en geneesmiddelen met hun rapportagegrenzen weergegeven. In alle monsters zijn antibiotica bestudeerd en in een selectie van monsters zijn ook humane geneesmiddelen en hormonen onderzocht.

In het slib dat later op de kant is gezet zijn enkele hormonen en diverse geneesmiddelen (waaronder ook antibiotica) aangetroffen (Tabel 5). De aanwezigheid van deze stoffen laat zien dat het slib sporen

van afvalwater bevat. Dit ligt in de lijn der verwachting voor een watersysteem dat sterk wordt beïnvloed door een RWZI effluent. In het slib zijn tevens residuen van de natuurlijke hormonen oestron en progesteron aangetroffen. Daarnaast is ook 17α -oestradiol aangetroffen. Dit is een humaan metabooliet van het natuurlijke hormoon 17β -oestradiol. In het slib zijn met name de concentraties van een aantal β -blokkers en antidepressiva hoog. Deze stoffen worden echter niet in de bodem- en grondwatermonsters gevonden.

In de bodem is het antibioticum lincomycine aangetroffen. In het grondwater is paracetamol aangetroffen. Daarnaast zijn in het grondwater nog twee omzettingsproducten van geneesmiddelen gevonden. Dit zijn salicylzuur, een omzettingsproduct van aspirine en tevens een stof die van nature voorkomt in wilgenbast, en guanylureum een omzettingsproduct van metformine dat wordt gevormd in de RWZI en het milieu (Scheurer *et al.*, 2009). Het is vreemd dat juist het grondwater dat is bemonsterd vóór het opbrengen van het slib de meeste geneesmiddelen bevat. Mogelijk is het grondwater ter plekke door infiltratie van het oppervlaktewater of door recente overstromingen van de slibvang beïnvloed (de put is geslagen in de dijk van het overloop gebied van de slibvang). De resultaten laten echter zien dat chemische verbindingen na het opbrengen van het slib, net als voor de CALUX responsen, in de beperkte tijd van het experiment niet in de bodem of het grondwater terecht komt.

Tabel 5

Aangetroffen geneesmiddelen (inclusief antibiotica) en hormonen te Groesbeek.

Stof	Slib (bagger) ($\mu\text{g/g}$)	Bodem (TO) ($\mu\text{g/g}$)	Grondwater (TO) ($\mu\text{g/L}$)	Grondwater (T1) ($\mu\text{g/L}$)	Grondwater (T2) ($\mu\text{g/L}$)
Sulfapyridine (antibioticum) ⁵	0,002 ¹	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001
Ciprofloxacin (antibioticum) ^{5,6}	0,027	<0,010	<0,010	<0,010	<0,010
Atenolol (β -blocker) ⁶	0,27	<0,100	<0,010	<0,010	<0,010
Sotalol (β -blocker) ⁶	0,97	<0,100	<0,010	<0,010	<0,010
Metoprolol (β -blocker) ⁶	20,2	<0,100	<0,010	<0,010	<0,010
Propranolol (β -blocker) ⁶	8,51	<0,100	<0,010	<0,010	<0,010
Pindolol (β -blocker) ⁶	0,14	<0,100	<0,010	<0,010	<0,010
Carbamazepine (antiepilepticum) ⁶	0,79	<0,100	<0,010	<0,010	<0,010
Fluoxetine (antidepressivum) ⁶	2,40	<0,100	<0,010	<0,010	<0,010
Diclofenac (pijnstillert) ⁶	0,11	<0,100	<0,010	<0,010	<0,010
Salicylzuur ³	nm	<50	0,220 ²	0,164 ²	<5,0
Guanylureum ⁴	nm	<0,50	0,054	<0,050	<0,050
Paracetamol (pijnstillert) ⁶	<0,100	<0,100	0,018	<0,010	<0,010
Lincomycine (antibioticum) ⁵	0,82	0,512	<0,010	<0,010	<0,010
Trimethoprim (antibioticum) ^{5,6}	0,51	<0,100	<0,010	<0,010	<0,010
Tramadol (pijnstillert) ⁶	0,91	<0,100	<0,010	<0,010	<0,010
Venlafaxine (antidepressivum) ⁶	3,07	<0,100	<0,010	<0,010	<0,010
Paroxetine (antidepressivum) ⁶	4,95	<0,500	<0,050	<0,050	<0,050
Gemfibrozil (cholesterolverlager) ⁶	0,20	<0,100	<0,010	<0,010	<0,010
Oestron (oestrogeen hormoon)	0,0007	<0,0002	<0,00001	<0,00001	<0,00001
17α -oestradiol (oestrogeen hormoon)	0,0001	<0,0002	<0,00001	<0,00001	<0,00001
Progesteron (zwangerschapshormoon)	0,0003	<0,0001	<0,00001	<0,00001	<0,00001

nm = niet gemeten

1 identificatie van stof onvolledig

2 kwalitatieve bepaling onder kwantificatielimiet

3 omzettingsproduct van acetylsalicylzuur (ontstekingsremmer, merknaam aspirine); komt tevens voor in wilgenbast

4 omzettingsproduct van antidiabeticum metformine

5 veterinair geneesmiddel

6 humaan geneesmiddel

4.3 Discussie & risico-evaluatie

Uit de inventarisatie naar locaties bij verschillende waterschappen blijkt dat de bagger uit wateren die sterk worden beïnvloed door RWZI effluent niet of nauwelijks lokaal op de kant wordt gezet. In de directe omgeving van overstorten en RWZI effluënten is het tegenwoordig niet meer toegestaan dit te doen en wordt het slib doorgaans afgevoerd, opgeslagen in depots en elders verwerkt. Dit maakt dat het scenario dat is bestudeerd achteraf misschien niet meer representatief is voor een veel voorkomende situatie in Nederland.

Referentiegehalten (van onderzoeken in Nederland) om de activiteit in slib en sediment mee te vergelijken zijn er niet of nauwelijks. De ER-CALUX activiteit in slib is lager dan gemeten in het Landelijk Onderzoek oEstrogene Stoffen (Vethaak *et al.*, 2005). Dat in het slib ER- en anti-AR activiteit wordt aangetroffen is conform de verwachting uit de literatuur: na RWZI's wordt vaak een combinatie van ER- en anti-AR activiteit gevonden (Jobling *et al.*, 2009; Zhao *et al.*, 2011; Stalter *et al.*, 2011). Van de ER-CALUX is bekend dat de natuurlijke vrouwelijke hormonen 17 β -oestradiol en oestron vaak een deel van de vervrouwelijkende activiteit kunnen verklaren (Lamoree *et al.*, 2010; Streck, 2009). Voor de anti-AR activiteit kan een groot aantal stoffen verantwoordelijk zijn: verschillende hormonen (steroiden), ftalaten, nonylfenolen, diverse bestrijdingsmiddelen (organofosfaten), polycyclische musken (Li *et al.*, 2008; Li *et al.*, 2010; Orton *et al.*, 2011; Roy *et al.*, 2004; Schreurs *et al.*, 2005; Swan, 2008). Met uitzondering van de hormonen zijn deze stoffen niet onderzocht in dit onderzoek. Deze stoffen kunnen echter wel verwacht worden in wateren die beïnvloed worden door RWZI-effluent. Daarnaast kunnen ook polyaromatische koolwaterstoffen (PAK's), geoxideerde PAK's en stoffen uit olie ('petrogenic naphthenic acids') anti-androgene activiteit vertonen (Thomas *et al.*, 2009). Deze worden ook vaak in sediment aangetroffen. Complicerende factor is wel dat veel stoffen meerdere hormonale activiteiten tegelijkertijd vertonen (Li *et al.*, 2010; Roy *et al.*, 2004), bijvoorbeeld oestrogeen en zwak anti-androgeen. Voor zover ons bekend zijn er niet eerder CALUX-metingen in de bodem uitgevoerd. Zodoende zijn er geen referentiegehalten om de gevonden activiteit in de bodem mee te vergelijken.

De ER-calux activiteit in grondwater op tijdstip T=0 (G0) is hoog in vergelijking met eerdere onderzoeken. Meestal is de activiteit in grondwater <0,1 ng E2 eq./L (zie Tabel B6-1 in Bijlage 6), hier is deze bijna 0,5 ng E2 eq./L.

De huidige studie laat zien dat er flink wat geneesmiddelen waaronder ook enkele antibiotica aanwezig zijn in het slib van de slibvang. Daarnaast zijn ook enkele hormonen in lagere concentraties aangetroffen (Tabel 5). In de bodem en het grondwater worden veel minder stoffen aangetroffen. De geneesmiddelenconcentraties in het slib zijn tot enkele of enkele tientallen $\mu\text{g/g}$ sediment, concentraties van antibiotica en hormonen bevinden zich respectievelijk op (sub) $\mu\text{g/g}$ en ng/g niveau. Voor concentraties van stoffen in sediment, bodem en grondwater bestaan geen normen. Wel is voor paracetamol een waterconcentratie waarbij geen effecten worden verwacht afgeleid (van der Aa *et al.*, 2011). Deze waarde wordt in het grondwater niet overschreden.

De aanwezigheid van de stoffen in het slib is geen verrassing aangezien uit een eerdere studie van WS Rivierenland in 2006 bekend is dat het oppervlaktewater van de Leygraaf relatief hoge concentraties geneesmiddelen aanwezig zijn, afkomstig uit de bovenstrooms gelegen RWZI (informatie Ronald Gylstra, Waterschap Rivierenland). Het analyse pakket dat in de huidige studie is gebruikt verschilt van het pakket uit 2006. De volgende stoffen die hier in het sediment van de slibvang zijn aangetroffen zijn indertijd ook in het effluent van RWZI Groesbeek of in de Leygraaf na het lozingspunt van de RWZI gevonden: metoprolol, carbamazepine, diclofenac, lincomycine, trimethoprim, gemfibrozil en progesteron. Stoffen die eerder wel in het RWZI effluent of de Leygraaf voorkwamen, maar nu niet in het sediment, zijn benzafibraat, clofibraat, cyclofosfamide, erythromycine, fenazon, naproxen, pentoxyfilline en sulfamethoxazol. Het feit dat deze stoffen niet in het slib worden gevonden kan liggen aan veranderend geneesmiddelengebruik, afbraak in het milieu of weinig hechting aan slibdeeltjes.

Voor geneesmiddelen en aangetroffen hormonen in het sediment of slib bestaan geen streefwaarden. Aangetroffen gehalten kunnen echter wel met concentraties uit de wetenschappelijke literatuur

worden vergeleken. Voor het slib kan voor een beperkt aantal stoffen (gemfibrozil, carbamazepine en ciprofloxacine) een vergelijking gemaakt worden met gehalten in RWZI-zuiveringsslib. De gehalten vallen binnen de ranges die in een meetcampagne in de VS in zuiveringsslib werden aangetroffen, maar zijn hoger dan in een EU brede screening in zuiveringsslib is gemeten (Tavazzi *et al.*, 2012). Het gaat in de betreffende studie echter niet om zuiveringsslib (dat in Nederlands wordt afgevoerd en verbrand), maar slib in een watergang. Bovendien blijken de aangetroffen concentraties geneesmiddelen vergelijkbaar of hoger dan wat doorgaans in rivier-sedimenten wordt aangetroffen (Monteiro *et al.*, 2010) en worden in een studie van Camacho-Muñoz *et al.* (2013) beduidend lagere concentraties in de sediment van de rivierdelta van La Puebla del Rio rivier (Zuid Spanje) als ecologisch risico aangemerkt (Camacho-Muñoz *et al.*, 2013). De stoffen in het slib van de slibvang van Groesbeek vormen daarom waarschijnlijk (ook) een risico voor het plaatselijke aquatische ecosysteem.

Het op het land brengen van slib met deze stoffen kan er in principe toe leiden dat deze stoffen in bodem of grondwater terecht komen (Harmsen *et al.*, 2012). In de huidige studie zijn maar enkele stoffen in het grondwater aangetroffen. De oorsprong van de stoffen in het grondwater is echter niet geheel duidelijk omdat vóór het opbrengen de hoogste concentraties van geneesmiddelen werden aangetroffen.

De aangetroffen concentraties van stoffen in het grondwater zijn doorgaans lager dan streefwaarden beschreven in Bijlage 6. Een uitzondering hierop is het omzettingproduct van aspirine: salicylzuur. Deze stof wordt in het grondwater aangetroffen in concentraties tot 220 ng/L. Deze stof is echter niet in het slib gevonden. Tevens is deze stof niet aangetroffen in sterk door RWZI's beïnvloede beken in Limburg (ter Laak *et al.*, 2013). Het lijkt er dus op dat deze stof niet afkomstig is van het slib. Omdat deze stof ook van nature voorkomt in wilgenbast is het mogelijk dat deze stof van natuurlijke oorsprong is.

Kort samengevat bevat het sediment relatief hoge concentraties van verschillende geneesmiddelen en hormonen. In de korte studie naar de verspreiding van deze stoffen zijn (nog) geen aanwijzingen gevonden dat deze stoffen zich (snel) in de bodem en het grondwater kunnen verspreiden. De duur van dit (pilot) experiment was echter kort. Op langere termijn zal het slib door bioturbatie (beweging van dieren in de bodem) vermengen en onderdeel worden van de bodem. Als de aangetroffen stoffen voldoende persistent zijn nemen concentraties van deze stoffen in de bodem toe. Het is onbekend of de aanwezigheid van deze stoffen in de bodem effecten heeft op organismen in de bodem en het bodemsysteem. Bovendien is het op lange termijn niet uit te sluiten dat de stoffen aanwezig in het slib zich op de lange termijn wel in grondwater kunnen komen. Omdat het direct op de kant zetten van bagger, beïnvloed door RWZI effluenten of overstorten, weinig voorkomt (voor zover dat uit een inventarisatie bij verschillende waterschappen kan worden opgemaakt) is deze route van verspreiding mogelijk minder relevant in Nederland. Dit slib zal echter wel worden afgevoerd naar slibdepots. Afhankelijk van de kwaliteit van het slib, kan het worden gestort in diepe plassen of aangewend voor bijvoorbeeld wegebouw. Hoe lang de betreffende stoffen in het slib blijven zitten en in hoeverre de stoffen zich via slibdepots en later gebruik kunnen verspreiden is in deze studie niet onderzocht. Mogelijk is deze route voor diverse geneesmiddelen, hormonen en stoffen met hormonale activiteit wel relevant.

5 Pilot 3 - Infiltrerend afvalwater

Ongezuiverd afvalwater kan door lekkage en overstorten in respectievelijk oppervlaktewater en bodem of grondwater terecht komen. In deze pilot zijn beide emissieroutes onderzocht. In Doorn is een vijver onderzocht waar een overstort op aangesloten is en in Amersfoort is de bodem en het grondwater nabij een voormalig lek riool onderzocht.

5.1 Locaties & methoden

5.1.1 Locaties

Voor het kiezen van locaties zijn de volgende criteria opgesteld:

- Hogere zandgronden;
- Overstort of infiltratie van afvalwater in de bodem;
- Indien mogelijk oppervlaktewater aanwezig voor bemonstering;
- Indien mogelijk grondwater waarnemingsputten aanwezig van drinkwaterbedrijf of lokale overheid;
- Informatie over locatie riolen en overstort aanwezig;
- Kennis van het hydrologische systeem aanwezig;
- Bij voorkeur locaties waar ook al meer bekend is van (grond)waterkwaliteit.

Op basis van overleg met de Provincie Utrecht, Vitens en de gemeentes Amersfoort en Utrechtse Heuvelrug zijn twee locaties geselecteerd voor het onderzoek.

5.1.2 Monstername

De details van de monstername staan in Tabel 6.

Locatie Doorn

Doorn ligt aan de zuidzijde van de Utrechtse heuvelrug. Onderaan de heuvelrug bevindt zich een riooloverstort die uitmondt in een ondergronds betonnen bassin. Bij extreme regen kan dit bassin vol raken en overstorten in een vijver op het terrein van het Militair Revalidatie Centrum Aardenburg (Fig. 4). Uit informatie van de Gemeente Utrechtse Heuvelrug bleek dat het water enkele malen per jaar overstort. Er is echter geen informatie over de exacte frequentie van en de hoeveelheid overstortend water. Verder wordt de vijver gevoed door uittredend grondwater onderaan de heuvelrug. Het water beweegt tot enkele tientallen centimeters mee met het niveau van het grondwater. Dit betekent dat, afhankelijk van de hydrologische situatie, water uit de vijver in het grondwater kan lopen of grondwater uittreedt in de vijver.

Op 31 mei 2013 zijn het slib nabij de overstortlocatie, het oppervlaktewater en het grondwater 15 meter 'benedenstrooms' van de vijver bemonsterd om te onderzoeken of sporen van nieuwe verontreinigingen uit het afvalwater in deze monsters te vinden waren.



Figuur 4 *Uitmonding van overstort in vijver te Doorn.*

Locatie Amersfoort

Nabij een groot ziekenhuis in Amersfoort (Meander Medisch Centrum op de Amersfoortse Berg) ligt een oud riool. De gemeente heeft dit riool in 2007 vervangen (mededeling Han Lensink, Gemeente Amersfoort). Bij vervanging bleek dat het riool, dat daar in de jaren 30 van de vorige eeuw is neergelegd, op veel plekken lek was. Omdat het riool zich ongeveer 20 meter boven de grondwaterspiegel bevond kon het afvalwater de bodem in lopen. Waarschijnlijk is het ongezuiverde afvalwater van het ziekenhuis en aangesloten woningen decennia lang de bodem in gesijpeld. Vitens heeft aan de overzijde van de Hugo de Grootlaan een drinkwaterwinning. Uit eerdere inventarisaties van Vitens blijkt dat in het ruwe grondwater (vóór de zuivering) sporen van het röntgencontrastmiddel diatrizoïnezuur (ook bekend als amidotrizoïnezuur) zijn aangetroffen. Deze sporen zijn waarschijnlijk afkomstig van dit riool of andere lekkende riolen in de omgeving aangezien het gebied geen andere bronnen van geneesmiddelen kent (zoals oude vuilstorten).

Door de diepte van het grondwater, ruim 20 meter onder het maaiveld, was het niet mogelijk direct onder het riool grondwatermonsters te nemen. Daarom is, met medewerking van Vitens, een pompput die hemelsbreed ongeveer 100 meter van het lekke riool ligt bemonsterd. Daarnaast is de bodem direct naast het oude riool op twee plekken bemonsterd om te onderzoeken of de bodem naast het riool sporen van microverontreinigingen aanwezig in afvalwater bevat. De monsternamepunten worden getoond in Fig. 5.



Figuur 5 Kaart van de Amersfoortse berg met daarop de locatie van het voormalige lekke riool en de pomputten van Vitens (kaart is van Vitens).

5.1.3 Metingen

In deze studie zijn biologische CALUX assays (ER, AR, GR, PR en anti-AR) en chemische antibiotica analyses uitgevoerd op alle monsters. In een selectie van de monsters zijn humane geneesmiddelen en hormonen bepaald.

Tabel 6

Samenvattende Tabel monsternamen in Pilot 3 Infiltrerend afvalwater.

Locatie	Datum	Monstertype	Opmerkingen
Doorn	31 mei 2013	Waterbodem	Samengesteld monster van 5 sub-monsters nabij (enkele meters) overstortlocatie. Oppervlakkig slib van 0-10 cm diep is bemonsterd
		Oppervlaktewater	Steekmonsters van het oppervlaktewater uit de vijver
		Grondwater	Peilbuis ongeveer 15 meter benedenstrooms van vijver geplaatst, oppervlakkig grondwater bemonsterd
Amersfoort	12 juli 2013	Bodem	Twee samengestelde bestaande uit 5 sub-monsters van de bodem nabij het oude riool op ongeveer 2 meter diepte (iets lager dan ligging oude riool)
		Diep grondwater	Bij Vitens is een nabijgelegen pomput bemonsterd waar bij eerder onderzoek sporen van geneesmiddelen zijn aangetroffen

5.2 Resultaten

5.2.1 Biologische analyses

In Tabel 7 en Tabel 8 zijn de resultaten van de CALUX analyses van de monsters uit respectievelijk Amersfoort en Doorn vermeld. Enkel de positieve responsen zijn weergegeven. Voor vast materiaal is

de respons per gram uitgedrukt en voor de watermonsters is de respons per liter uitgedrukt. In het grondwater van Amersfoort zijn geen positieve responsen aangetroffen.

Uit de analyse blijkt dat in Amersfoort enkel een (zeer lage) anti AR-CALUX respons wordt aangetroffen in de bodem. Het ontbreken van een ER-CALUX respons suggereert dat niet de bodem is bemonsterd waar relevante (oestrogene) residuen van afvalwater in zitten. Dit ondanks dat er twee monsters zijn samengesteld uit een vijftal sub-monsters die genomen zijn om de twee meter direct naast de loop van het oude riool.

De ER-CALUX respons in het oppervlaktewater van Doorn is gelijk aan tot hoger dan wat doorgaans wordt aangetroffen in de grote rivieren (Puijker, 2007; RIWA, 2009; ter Laak *et al.*, 2013). Voor anti-AR activiteit ontbreken referentiegegevens voor alle matrices. Wel is de anti-AR activiteit in sediment ongeveer de helft lager dan in het sediment dat bij Groesbeek op de kant is gebracht.

Tabel 7

Waargenomen CALUX respons te Amersfoort.

CALUX assay	Bodem (monster 1)	Bodem (monster 2)
Anti AR-CALUX (ng Flutamide eq./g monster)	2776	1053

Tabel 8

Waargenomen CALUX respons te Doorn.

CALUX assay	Sediment	Oppervlaktewater	Grondwater
ER CALUX (ng 17 β -oestradiol eq./L of g monster)	0,16	0,9	<0,042
Anti AR-CALUX (ng flutamide eq./L of g monster)	1667	6091	8630

5.2.2 Chemische analyses

Sporen van antibiotica, humane geneesmiddelen en hormonen worden aangetroffen in de diverse monsters van sediment, bodem, oppervlaktewater en grondwater genomen op de locaties in Doorn en Amersfoort. Tabel 9 en Tabel 10 laten de waargenomen stoffen in de verschillende monsters zien. De stoffen die wel zijn gemeten maar niet zijn aangetroffen zijn voor het overzicht weggelaten; er zijn immers ruim honderd verschillende stoffen geanalyseerd. In Bijlage 4 is te zien welke stoffen in de analysepakketten zaten en dus wel zijn gemeten maar niet aangetroffen.

Tabel 9

Waargenomen geneesmiddelen (inclusief antibiotica) en hormonen te Amersfoort.

Stof	Bodem ($\mu\text{g/g}$)	Grondwater ($\mu\text{g/L}$)
Sulfamethoxazol (antibioticum) ¹	<0,001	0,0016
Diatrizoïnezuur (röntgencontrastmiddel) ²	<0,100	0,0098

nm = niet gemeten

¹ humaan en veterinair geneesmiddel

² humaan diagnostisch middel

Tabel 10

Waargenomen geneesmiddelen (inclusief antibiotica) en hormonen te Doorn.

Stof	Sediment (µg/g)	Oppervlaktewater (µg/L)	Grondwater (µg/L)
Norfloxacin (antibioticum) ^{6,7}	0,004	<0,003	<0,002
Ciprofloxacin (antibioticum) ^{6,7}	0,015	<0,003	<0,002
Carbamazepine (antiepilepticum) ⁶	0,071 ¹	0,014	<0,010
10,11-trans-diol-carbamazepine ^{2,6}	0,075 ¹	0,034	<0,010
Salicylzuur ³	1,30 ¹	<5,0	<5,0
Propranolol (β-blocker) ⁶	0,455	<0,010	<0,010
Paroxetine (antidepressivum) ⁶	0,498	<0,010	<0,010
Lincomycin (antibioticum) ^{6,7}	1,18	<0,010	<0,010
Metformine (antidiabeticum) ⁶	0,742	<0,050	<0,050
Metoprolol (β-blocker) ⁶	0,370	0,007 ¹	<0,010
Tramadol (pijnstillert) ⁶	0,069 ¹	0,006 ¹	<0,010
Andros-4-ene-3,17-dione ⁴	0,0005	<0,00001	<0,00001
5β-dihydrotestosterone ⁵	0,0003	<0,00001	<0,00001
Oestron (oestrogeen hormoon)	0,0013	<0,00001	<0,00001
Progesteron (zwangerschapshormoon)	0,0009	<0,00001	<0,00001

¹ kwalitatieve bepaling, boven detectiegrens maar onder kwantificatielimiet (cursief weergegeven)

² humaan omzettingsproduct van carbamazepine

³ omzettingsproduct van acetylsalicylzuur (ontstekingsremmer, merknaam aspirine) komt tevens voor in wilgenbast

⁴ omzettingsproduct van androgeen hormoon

⁵ omzettingsproduct van testosteron hormoon

⁶ humaan geneesmiddel

⁷ veterinair geneesmiddel

In Amersfoort zijn in de bodemonsters genomen direct naast het oude riool geen geneesmiddelen of hormonen aangetroffen. Hoewel twee maal vijf steekmonsters direct naast de loop van de oude riool zijn genomen (boren onder het riool was met de gebruikte boormaterialen niet mogelijk) is de kans dat direct bij een lekkage grond is bemonsterd klein. Mogelijk zijn daarom geen effecten in de CALUX assays (Tabel 7) of residuen van antibiotica in dit monster aangetroffen. In het grondwatermonster dat hemelsbreed ongeveer 100 meter van het voormalige lekke riool op tientallen meters diepte is onttrokken zijn echter wel sporen van geneesmiddelen gevonden (Tabel 9). Het gaat om het röntgencontrastmiddel diatrizoïnezuur en het veelvuldig in de humane geneeskunde toegepast antibioticum sulfamethoxazol. In eerder onderzoek van Vitens in 2009 was diatrizoïnezuur ook aangetroffen in een iets hogere concentratie (0,06 µg/L, persoonlijke mededeling Martin de Jonge, Vitens). De bron van deze verontreinigingen is waarschijnlijk infiltratie van afvalwater uit lekke riolen in de omgeving. Infiltratie van verontreinigd oppervlaktewater is in dit gebied niet erg plausibel aangezien het grondwater op dit hoog gelegen punt in Amersfoort niet gevoed wordt door lokaal oppervlaktewater. Het aantreffen van sporen van deze twee stoffen laat zien dat het grondwater wordt beïnvloed door infiltrerend afvalwater. Hoewel de lekkage van afvalwater niet kon worden aangetoond in de bodem direct naast het riool, laat het grondwater wel zien dat er stoffen die aanwezig zijn in afvalwater in het grondwater terecht komen. Deze twee stoffen zijn gevonden doordat deze stoffen (in ziekenhuizen) veel worden/werden gebruikt (Vergouwen *et al.*, 2011), mobiel en persistent zijn in zandige bodem (Thiele-Bruhn *et al.*, 2004) en bovendien in zeer lage concentraties kunnen worden gemeten.

In Doorn worden in de sediment- en oppervlaktewatermonsters geneesmiddelen en hormonen aangetroffen (Tabel 10). Hoewel het onbekend is hoeveel afvalwater jaarlijks ongezuiverd in de vijver terecht komt, laten de resultaten zien dat het overstorten van afvalwater zijn sporen heeft nagelaten. In het sediment van de vijver worden diverse geneesmiddelen en hormonen gedetecteerd. In het oppervlaktewater worden enkel de geneesmiddelen carbamazepine (en een omzettingsproduct), tramadol en metoprolol aangetroffen. Deze stoffen hebben niet de hoogste concentraties in het sediment. Het ontbreken van de andere hormonen en enkele geneesmiddelen in het oppervlaktewater die wel zijn aangetroffen in het sediment wordt waarschijnlijk veroorzaakt door (een combinatie van) sterke sorptie van deze stoffen aan het sediment (Williams *et al.*, 2009) en snelle omzetting in de waterfase. In het grondwater te Doorn zijn geen van de verontreinigingen uit de analysepakketten gevonden, ook niet de in het sediment en het oppervlaktewater aangetroffen verbindingen.

Deze studie laat zien dat residuen van geneesmiddelen in het sediment en oppervlaktewater nabij een overstort terecht komen. De relatie met het grondwater kan in deze pilotstudie niet worden gelegd. Hiervoor is meer kennis van de plaatselijke hydrologie en onderzoek langs stroombanen van het grondwater nodig. Of de aangetroffen concentraties een risico vormen wordt beschreven in de volgende paragraaf.

5.3 Discussie & risico-evaluatie

In deze pilot studie zijn twee routes van afvalwaterinfiltratie bestudeerd. Het betreft in beide gevallen ongezuiverd afvalwater. In Doorn is bestudeerd hoe overstorten op oppervlaktewater kunnen leiden tot verspreiding van microverontreinigingen uit ongezuiverd afvalwater in het aquatische milieu en de bodem. In Amersfoort is gekeken in hoeverre lekkende riolen kunnen leiden tot verspreiding van deze microverontreinigingen naar de bodem en het grondwater. Beide situaties hebben een kwalitatief karakter omdat de hoeveelheden afvalwater die via overstort of lekkage in oppervlaktewater en bodem komen in deze specifieke situaties onbekend zijn. Verschillende studies hebben echter geschat of in kaart gebracht hoeveel afvalwater via overstort of lekkende riolen in de bodem terecht kan komen.

Volgens een studie van Grontmij is het deel van het afvalwater dat ongezuiverd in het oppervlaktewater overstort minder dan 1% van het totaal (Pieters, 2011). Dit leidt tot de emissie van stoffen aanwezig in ongezuiverd afvalwater. Overstorten vinden echter plaats bij hevige regen in gemengde rioolstelsels (met regenwater én afvalwater). Hevige regen verdunt het afvalwater, maar het kan ook leiden tot werveling van bezonken materiaal. Daardoor is de samenstelling van het afvalwater ten tijde van een overstort afwijkend van 'normaal afvalwater'. Rutsch *et al.* (2008) hebben lekgetallen van rioolstelsels in kaart gebracht. Daarin worden lekverliezen van 1 tot 56% van het totale volume afvalwater gerapporteerd, waarbij ze voor de meeste studies (4 van de 5) een lekkage van ten hoogste 13% berekenen. Hoewel deze studie in Duitsland is uitgevoerd, laat dit zien dat relevante fracties van het afvalwater ongezuiverd in de bodem kunnen lopen als lekkende riolen boven de grondwaterspiegel liggen. In Nederland bevinden de meeste riolen zich echter onder de grondwaterspiegel. Alleen in hoger gelegen gebieden zoals de Utrechtse Heuvelrug en bepaalde gebieden in het zuiden en oosten van het land bevinden riolen zich op grote schaal boven de grondwaterspiegel. Als riolen zich onder de grondwaterspiegel bevinden, zal het grondwater in het riool lekken (exfiltratie) in plaats van de lekkage van afvalwater in de bodem (infiltratie). Het risico van infiltrerend afvalwater is dan beperkt tot boven de grondwaterspiegel gelegen aansluitingen van woningen en gebouwen in de periferie van het rioolstelsel. De schaal van de lekkage van afvalwater in grondwater door lekkage uit rioolstelsels is derhalve moeilijk in te schatten voor de Nederlandse situatie.

Zoals in Hoofdstuk 2 en Bijlage 6 is beschreven, bestaan voor effectmetingen, hormonen en geneesmiddelen geen wettelijke normen in water, bodem of sediment. Voor effecten of concentraties in vast materiaal is het beoordelen van het risico sowieso complexer (Sijm *et al.*, 2000). Dit heeft twee redenen. Ten eerste zorgt binding van stoffen aan bodem of sediment er doorgaans voor dat stoffen minder snel worden afgebroken dan in water omdat ze minder beschikbaar zijn voor chemische en biologische omzetting. De stoffen zijn dus persistenter in de bodem dan in water. Ten tweede zorgt de binding aan bodem of sediment er voor dat de stoffen minder beschikbaar zijn waardoor organismen er minder last van hebben (Schwarzenbach *et al.*, 2003).

De ER CALUX respons van het sediment van de vijver in Doorn is lager dan wat doorgaans in sedimenten wordt aangetroffen (Tabel 8). De activiteit in sediment is vergelijkbaar met de activiteit in Groesbeek.

De ad hoc MTR voor 17 β -oestradiol in sediment (0,00901 mg/kg) wordt niet overschreden. De respons in het oppervlaktewater is echter vergelijkbaar of zelfs iets hoger dan activiteiten in grote oppervlaktewateren (Puijker, 2007; ter Laak *et al.*, 2013). In kleine oppervlaktewateren is de activiteit doorgaans hoger (Vethaak *et al.*, 2005) dan in deze studie is gemeten (Tabel 7 en 8). De ER-CALUX activiteit overschrijdt wel de concept KRW norm voor 17 β -oestradiol. De anti-AR CALUX respons is in alle monsters laag (Tabel 7 en 8). Bovendien lijkt deze respons geen verband te hebben met

afvalwater. Van deze respons wordt, op basis van een vergelijking met effectconcentraties uit de literatuur bovendien geen effect verwacht (Brand *et al.*, 2013).

Ook voor de chemische parameters bestaan geen wettelijke normen. De concentraties in water zijn derhalve getoetst aan de volgende streefwaarden (zie Bijlage 6): 0,1 µg/L, maar 0,01 µg/L voor stoffen die hormonaal actief of carcinogeen zijn. Voor carbamazepine en metoprolol zijn individuele milieukwaliteitsstandaarden (Environmental Quality Standards; EQS) van 0,5 µg/L gebruikt voor toetsing (Tabel B6-3, Bijlage 6). De bovengenoemde waarden worden in zowel Amersfoort als Doorn niet overschreden. Bovendien zijn de aangetroffen concentraties lager dan wat doorgaans in Nederlandse oppervlaktewateren wordt aangetroffen (Derksen *et al.*, 2013; ter Laak *et al.*, 2010; ter Laak *et al.* 2013).

Het bepalen van streefwaarden voor sediment is, zoals in Hoofdstuk 2 en Bijlage 6 is beschreven, ingewikkelder. Concentraties in het sediment zijn doorgaans vergelijkbaar met concentraties gevonden in de literatuur (Monteiro *et al.*, 2010). Omdat Camacho-Muñoz *et al.* (2013) vergelijkbare sediment concentraties in de delta van La Puebla del Rio rivier (zuid Spanje) als een risico voor het ecosysteem aanmerkt, kan de aanwezigheid van deze stoffen in het sediment in de vijver van Doorn mogelijk ook een risico voor het lokale ecosysteem vormen.

6 Pilot 4 – Mestverwerkende installaties

Dierlijke mest uit de intensieve veehouderij kan verschillende nieuwe verontreinigingen bevatten zoals diergeneesmiddelen (m.n. antibiotica) en (natuurlijke) hormonen. Recent zijn er ontwikkelingen op het gebied van de mestverwerking waarbij de mest in 'fabrieken' wordt gescheiden in een vaste en een vloeistoffractie (www.mestverwerken.wur.nl). Uit de vaste fractie wordt energie gewonnen en er wordt ook bestudeerd of deze als meststof kan worden gebruikt. Deze fractie bevat veel fosfaat. De vloeibare fractie wordt met omgekeerde osmose (RO) geconcentreerd en gebruikt als (kunst)mest. Het concentraat bevat veel stikstof. Deze nieuwe manier van mestverwerking biedt veel voordelen (zie o.m. Lesschen *et al.*, 2011), maar als een dergelijke techniek op grote schaal wordt toegepast, is het van belang ook de risico's in kaart te brengen.

Het concentraat kan (net als de mest) mogelijk hoge concentraties antibiotica en hormonen bevatten. Deze microverontreinigingen kunnen met het mineralenconcentraat op de bodem wordt gebracht. Antibiotica en hormonen zijn biologisch zeer actieve stoffen die een mogelijk risico vormen voor het bodemleven en de kwaliteit van het grondwater. Daarom is onderzoek gedaan naar de aanwezigheid van deze stoffen in de verschillende stromen binnen de installaties en naar het lot van deze stoffen na toediening van concentraat aan de bodem.

Het onderzoek aan de Mestverwerkende Installaties (MVI's) is afgestemd met Livestock Research van Wageningen UR (WUR-LR) dat al enkele jaren onderzoek doet aan een aantal MVI pilots. De gegevens van de bedrijven worden anoniem gerapporteerd. De hier gebruikte éénletterige codes voor de bedrijven zijn hetzelfde als die in de rapportages van Livestock Research (o.m. Hoeksma *et al.*, 2011; Velthof *et al.*, 2011; Hoeksma & Buissonjé, 2012).

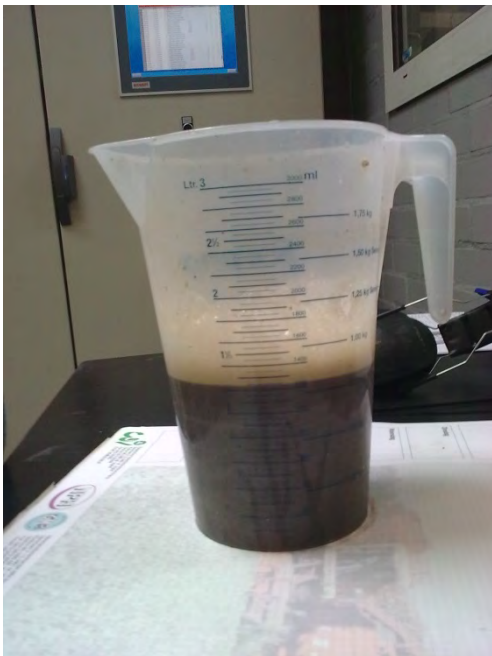
6.1 Locaties & methoden

6.1.1 Locaties

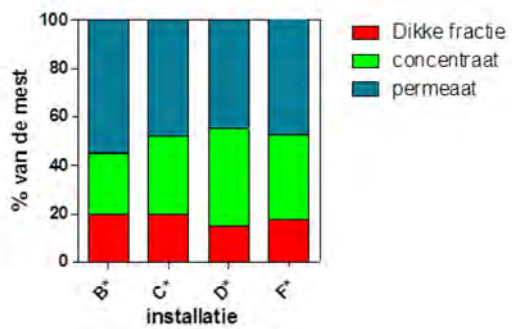
Er zijn vier mestverwerkende installaties (MVI's) voor het onderzoek geselecteerd (Fig. 6). De MVI's verwerken alle vier varkensdrijfmest en zijn gesitueerd in de Provincie Noord-Brabant. Drie bedrijven verwerken alleen mest van vleesvarkens, terwijl een vierde (Bedrijf D*) ook zo'n 80% mest van fokzeugen verwerkt (Hoeksma *et al.*, 2011). Het proces van de geselecteerde bedrijven berust op scheiding van een dikke fractie met een pers, ontwatering door flotatie en scheiding van geconcentreerde effluent uit de flotatie in een (mineralen)concentraat (Fig. 7) en een permeaat d.m.v. omgekeerde osmose ('reverse osmosis' in het Engels en daarom vaak RO genoemd). In dit rapport noemen we het permeaat verder 'het effluent' (richting oppervlaktewater). De geselecteerde MVI's passen geen van allen co-vergisting toe. Enkele karakteristieken waarin de bedrijven verschillen staan in Tabel 11. Dit betreft onder andere de capaciteit, het type pers en de apparatuur en membranen die worden gebruikt voor de omgekeerde osmose. Grofweg levert een kg (ca. 1L) aangevoerde varkensmest ongeveer 15-20% dikke fractie, 20-40% concentraat en 45-55% permeaat (effluent) op. Vooral de hoeveelheid concentraat verschilt per bedrijf (Fig. 8).



Figuur 6 Opslagtank voor varkensdrijfmest bij een mestverwerkende installatie.



Figuur 7 Mineralenconcentraat uit een mestverwerkende installatie.



Figuur 8 Massaverdeling van mest over dikke fractie, concentraat en permeaat.

Tabel 11

Kenmerken van geselecteerde mestverwerkende installaties. Gegevens uit Hoeksma et al. (2011) en Hoeksma & Buissonjé (2012).

MVI	Mechanische scheiding	Apparatuur omgekeerde osmose (RO)	Eindproducten	Verwerkte grondstof (ton/jr.)	Dikke fractie (ton/jr.)	Concentraat (ton/jr.)	Effluent (ton/jr.)
B*	Zeefbandpers	Hydranautics SWC 4+ Opp.: 1728 m ² Cap.: 17 m ³ /h Werkdruk: 70 bar	Dikke fractie Concentraat RO Permeaat RO (na ionenwisseling)	50.000	10.000	12.500	27.500
C*	Zeefbandpers	Hydranautics SWC 4+ Opp.: 648 m ² Cap.: 6 m ³ /h Werkdruk: 60 bar	Dikke fractie Concentraat RO Permeaat RO	25.000	5.000	8.000	12.000
D*	Vijzelpers Smicon	Hydranautics SWC 4+ Opp.: 216 m ² Cap.: 2 m ³ /h Werkdruk: 40 bar	Dikke fractie Concentraat RO Permeaat RO	10.000	1.500	4.000	4.500
F*	Zeefbandpers	Toray, 8' TM 820-370 Opp.: 672 m ² Cap.: 10 m ³ /h Werkdruk: 60 bar	Dikke fractie Concentraat RO Permeaat RO	25.000	3.750	7.500	13.750

Mineralenconcentraat wordt in de praktijk toegepast op percelen waar door het jaar heen ook 'gewone' varkensdrijfmest wordt aangewend. Dit soort percelen is daarom minder geschikt voor het onderzoek omdat eventueel gevonden nieuwe verontreinigingen op deze percelen of in het omringende oppervlaktewater niet te herleiden zijn naar het gebruik van mineralenconcentraten alleen. Om deze reden is het oriënterende onderzoek naar de lotgevallen in de bodem uitgevoerd op het proefbedrijf Vredepeel (Noord-Brabant, op de grens met Limburg) van het Praktijkonderzoek Plant & Omgeving (PPO) van Wageningen UR. Hier heeft in de zomer van 2013 een proef plaatsgevonden waarbij de geschiktheid van het concentraat van de MVI met code B* als kunstmestvervanger in prei werd onderzocht. Mineralenconcentraat werd geïnjecteerd (10 cm diep), vervolgens werd de toplaag geëgaliseerd, ondiep geploegd (20-22 cm) en enkele dagen later is prei gepoot. Het concentraat is slechts één maal toegediend.

Het betreft een langgerekt gedeelte van een proefveld (Fig. 9). Het met concentraat behandelde preiperceel is 200m lang en 18m breed. Op dit perceel wordt verder geen organische stof aangevoerd met mest; er wordt alleen kunstmest en mineralenconcentraat gebruikt. Een jaar eerder, in 2012, heeft op het perceel conservenerwt gestaan, gevolgd door Engels raaigras. De conservenerwten en het Engels raaigras zijn bemest met kunstmest. Dus in 2012 is geen mineralenconcentraat of dierlijke mest gebruikt op deze plek.

Aan één van de korte kanten bevindt zich een sloot waarin drains uit het veld uitkomen. Eén van de drains draineert het proefperceel. Bij het perceel vond ook onderzoek plaats naar de effecten van uitspoeling van nutriënten door het Nederlands Instituut voor Oecologisch Onderzoek (NIOO). Het NIOO heeft hiertoe in de sloot om de drain een plastic scherm geplaatst waarin schoon sediment is aangebracht. Bij veel regenval gaan de drains lopen en vullen de afscheidingen ('enclosures') zich met sediment en water dat alleen uit de drain van het behandelde veld afkomstig is. Dit bleek zeer geschikt voor het onderzoek naar eventuele uitspoeling van de bestudeerde nieuwe verontreinigingen. Van het NIOO is toestemming verkregen om hiervoor het sediment van de enclosure te bemonsteren.



Figuur 9 Monsternamen van grondwater in een experimenteel preiperceel op het Proefbedrijf Vredepeel van Wageningen UR.

Analoog aan het baggerexperiment van Pilot 2 is op de proeflocatie Vredepeel ook gekozen voor een bemonstering vóór behandeling van het veld met mineralenconcentraat (T0), twee weken na behandeling (T1) en twee maanden na behandeling (T2). Daarnaast werden monsters genomen na een drainagegebeurtenis (DR).

6.1.2 Monsternamen

WUR-LR heeft voor Alterra op 24 en 25 april de volgende monsters genomen bij ieder van de vier genoemde mestverwerkende installaties.

Mest MVI:	3 monsters (voor CALUX, antibiotica en hormonen)
Concentraat MVI:	3 monsters (idem)
Dikke fractie MVI:	3 monsters (idem)
Effluent MVI:	3 monsters (idem)

Monsternamen geschiedde als bij eerdere bemonsteringen door de WUR-LR beschreven door Hoeksma & de Buissonjé (2011): 'Voor bemonstering van de ruwe mest, RO concentraat en RO permeaat (effluent) werd gebruik gemaakt van bestaande aftapkranen. Hieruit werden monsters van ca. 1 liter afgetapt. Dit gebeurde nadat de kranen enige tijd waren doorgespoeld. Op deze wijze werden monsters verkregen van 'vers product'. De bemonstering van de vaste processtroom (dikke fractie) gebeurde door direct na de scheiding vanaf de transportband ca. één liter dikke fractie te verzamelen. Op deze wijze werden monsters verkregen van 'vers product'.'

Toepassing van het mineralenconcentraat in Vredepeel heeft plaats gevonden op donderdag 20 juni 2013. De hoeveelheid was 18 m³/ha. Deze dosis is bepaald bij toediening met de bouwlandbemester.

Van het gebruikte concentraat van MVI met code B* is 1L verkregen voor analyses (CALUX, antibiotica en hormonen).

De bemonsteringen te Vredepeel zijn gerealiseerd op:

T0	-	dinsdag 18 juni 2013
T1	-	donderdag 4 juli 2013
T2	-	dinsdag 27 augustus 2013
DR	-	water donderdag 7 november en sediment maandag 11 november 2013

Op het perceel te Vredepeel werden per bemonsteringstijdstip T0, T1 en T2 de volgende monsters standaard genomen (methoden in Bijlage 1):

Grond toepassingslocatie:	1 mengmonster
Ondiep grondwater toepassingslocatie:	1 monster
Oppervlaktewater enclosure:	1 monster (indien water aanwezig)
Sediment enclosure:	1 mengmonster

Op T0 (18 juni) zijn voor vergelijking met de monsters binnen de enclosure enkele extra monsters genomen uit de sloot buiten de enclosure (oppervlaktewater en sediment). Op die dag is door de monsternemer van Alterra bovendien ook grondwater aangeboord (Fig. 9). PPO heeft na de toediening van het mineralenconcentraat en ploegen een peilbuis geslagen om het bemonsteren van het grondwater te vergemakkelijken.

Tijdens en na de drainagegebeurtenis op 7 november werden monsters genomen van het water uit de drain en het sediment in de enclosure (DR monsters).

6.1.3 Metingen

Biologische analyses per monster (alle monsters):

- CALUX assays (ER, AR, anti-AR, GR, PR)

Chemische analyses per monster:

- Antibiotica (alle monsters)
- Hormonen (selectie monsters)

6.2 Resultaten

6.2.1 Mestverwerkende installaties

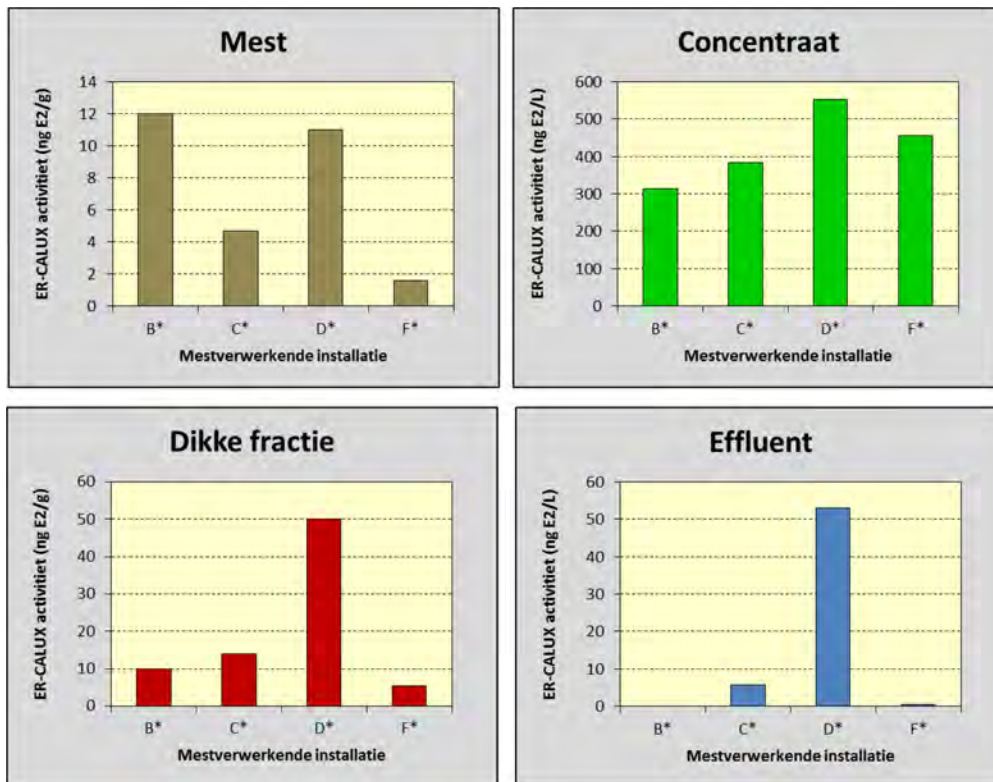
6.2.1.1 Biologische analyses

De resultaten van de CALUX analyses van de monsters uit de mestverwerkende installaties zijn te zien in respectievelijk Fig. 10 (ER-CALUX), Fig. 11 (AR-CALUX) en Fig. 12 (anti AR-CALUX). In de GR- en PR-CALUX assay werd geen respons gemeten. Dit is opmerkelijk, met name voor de PR-CALUX. Deze assay meet de activiteit van het zwangerschapshormoon progesteron en verwante stoffen. In een bedrijf dat veel mest van zwangere fokzeugen verwerkt, zoals bedrijf D*, zou je progestagene activiteit in de mest verwachten.

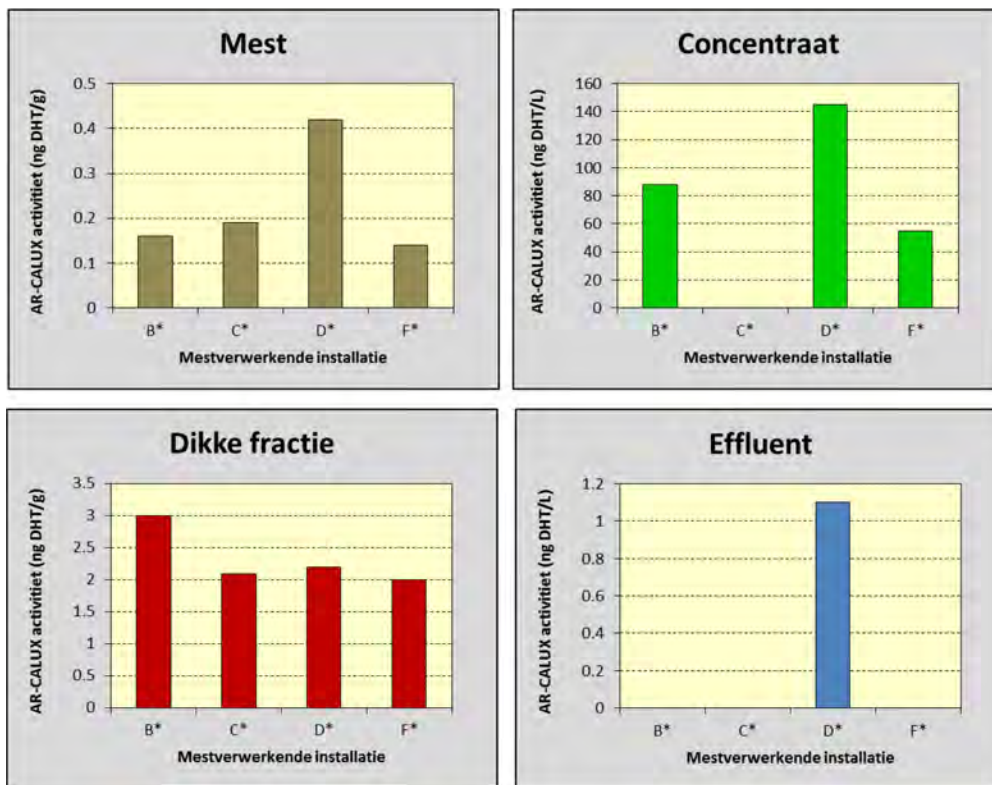
De oestrogene activiteit in de mest varieert aanzienlijk (Fig. 10), van ca. 2 tot 12 ng E2 (17 β -oestradiol) equivalenten per gram mest (versgewicht). Een klein deel van de oestrogene activiteit (>10%, zie ook Fig. 16) wordt teruggevonden in het mineralenconcentraat, maar is hierin minder variabel (ca. 300-550 ng E2 eq. per liter concentraat, dat is ongeveer ~0,3-0,5 ng eq. per gram concentraat). Het valt op dat de oestrogene activiteit van dikke fractie, het concentraat en met name het permeaat in installatie D* hoger is dan in dezelfde fracties uit de overige installaties. Kennelijk laat het proces op deze installatie meer oestrogene actieve stoffen door, en bovendien dringen deze stoffen door tot in het permeaat terwijl een membraanscheiding met omgekeerde osmose in principe een barrière voor deze stoffen zou moeten vormen. Mogelijk functioneert de scheiding van concentraat en permeaat m.b.v. omgekeerde osmose in dit bedrijf niet optimaal. Ook op andere

vlakken wijken de resultaten van dit bedrijf af van de andere bedrijven. Zo wordt in de ruwe mest en het concentraat van installatie D* meer androgene activiteit aangetroffen (Fig. 11). Bovendien bevat het effluent van MVI D* als het enige meetbare androgene activiteit. Installatie D* is de enige van de vier installaties waar voor de mechanische scheiding een vijzelpers wordt gebruikt in plaats van een zeefbandpers (zie Tabel 11).

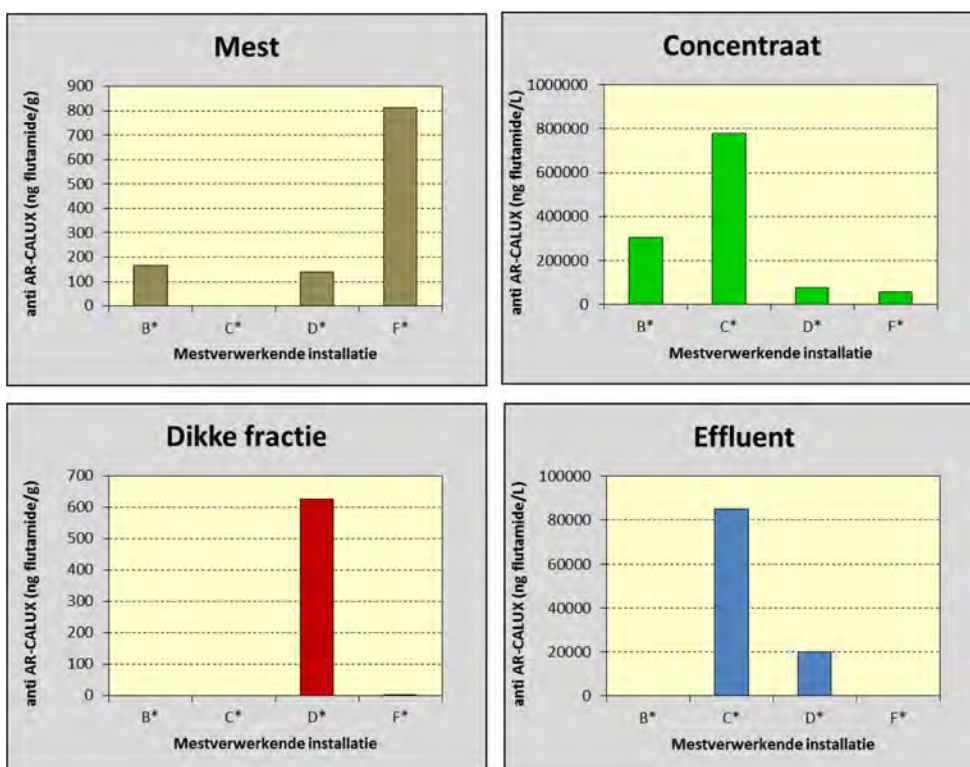
De mest uit de opslag op de bedrijven verschilt aanzienlijk in anti-androgene activiteit, van onder de meetgrens bij installatie C* tot 800 ng/g flutamide equivalenten bij installatie F* (Fig. 12). Opvallend genoeg wordt bij installatie C* de hoogste anti-AR activiteit in het concentraat en het effluent gemeten en voor installatie D* de hoogste anti-AR activiteit in de dikke fractie.



Figuur 10 Oestrogene hormonale activiteit in mest en verschillende fracties van mestverwerkende installaties gemeten met de ER-CALUX assay. NB – Voor de verschillende fracties zijn in de figuren verschillende eenheden en verschillende schalen gebruikt.



Figuur 11 Androgene hormonale activiteit in mest en verschillende fracties van mestverwerkende installaties gemeten met de AR-CALUX assay. NB – Voor de verschillende fracties zijn in de figuren verschillende eenheden en verschillende schalen gebruikt.



Figuur 12 Anti-androgene hormonale activiteit in mest en verschillende fracties van mestverwerkende installaties gemeten met de anti AR-CALUX assay. NB – Voor de verschillende fracties zijn in de figuren verschillende eenheden en verschillende schalen gebruikt.

6.2.1.2 Chemische analyses

De monsters van alle vier bedrijven werden geanalyseerd op de aanwezigheid van antibiotica. Op basis van de resultaten van de biologische screeningsassays is een selectie gemaakt voor nadere

chemische analyses van hormonen in MVI monster. Er is gekozen om in alle fracties van installaties B* en D* hormonen te meten. B* is het bedrijf met de grootste verwerkingscapaciteit en van dit bedrijf is ook het mineralenconcentraat gebruikt voor de veldstudie in Vredepeel. Bedrijf D* was het meest afwijkend van alle bedrijven, bovendien bevatten uitgaande fracties veel hormonale activiteit.

De resultaten van de antibiotica analyses worden weergegeven in Tabel 12 (alleen voor gedetecteerde stoffen). Van de bijna 40 onderzochte antibiotica en afbraakproducten zijn er slechts vijf aangetroffen in mest, mineralenconcentraat en de dikke fractie. Het betreft met name tetracyclines, te weten doxycycline en oxytetracycline en in mindere mate hun respectievelijke afbraakproducten 6-epi-doxycycline en 4-epi-oxytetracycline. Ook werd het sulfonamide antibioticum sulfadiazine aangetroffen. Bij deze laatste is het opmerkelijk dat dit antibioticum wel op locatie B*, C* en F*, maar niet bij locatie D* werd aangetroffen. Bovendien blijkt dat bij locatie B* de concentraties sulfadiazine in mest en mineralenconcentraat een ordegrrootte hoger zijn dan bij locatie C* en F*.

In de effluenten van de mestverwerkingsinstallaties werd uitsluitend doxycycline aangetroffen, in concentraties 6 - 45 µg/L. Andere antibiotica werden niet aangetroffen.

Steroïde hormonen zijn doorgaans neutrale en relatief hydrofobe stoffen die goed in vet oplossen en slecht in water oplossen. Dit maakt dat ze sterk binden aan organisch materiaal. Het is daarom te verwachten dat deze stoffen bij het scheiden van de mest in vaste en vloeibare fracties voornamelijk in de vaste fractie achterblijven. Dat blijkt ook het geval want de (hoogste concentraties) hormonen en de worden met name in de dikke fractie gevonden (Tabel 13). Hierin worden ook mannelijke hormonen en hun afbraakproducten gemeten. In de mest en het mineralenconcentraat worden sporen van vrouwelijke hormonen en het zwangerschapshormoon progesteron gemeten. In effluent zitten geen (bedrijf B*) of enkele natuurlijke vrouwelijke oestrogene hormonen (bedrijf D*).

Tabel 12

Aangetroffen antibiotica bij de mestverwerkingsinstallaties.

Monster code	Type monster	Eenheid	Doxycycline	6-epi-doxycycline	Oxytetracycline	4-epi-oxytetracycline	Sulfadiazine	Flumequine
B*	Mest	µg/kg	3170	114	724	<100	225	<10
B*	Mineralen-concentraat	µg/L	116 ¹	<100	42 ¹	<100	264	<10
B*	Dikke fractie	µg/kg	1812	<100	457	<100	24	<10
B*	Effluent	µg/L	6 ¹	<100	<1	<100	<1	<10
D*	Mest	µg/kg	2454	106	95	<100	<1	<10
D*	Mineralen-concentraat	µg/L	890	<100	86	<100	<1	<10
D*	Dikke fractie	µg/kg	1351	<100	77	<100	<1	<10
D*	Effluent	µg/L	31	<100	<1	<100	<1	<10
C*	Mest	µg/kg	4787	206	238	<100	18 ¹	<10
C*	Mineralen-concentraat	µg/L	1420	<100	167	<100	34	<10
C*	Dikke fractie	µg/kg	8603	370	260	<100	12 ¹	<10
C*	Effluent	µg/L	34	<100	<1	<100	<1	<10
F*	Mest	µg/kg	3913	138	883	104	10	40
F*	Mineralen-concentraat	µg/L	1307	<100	528	<100	20	15
F*	Dikke fractie	µg/kg	9883	394	949	112	5	179
F*	Effluent	µg/L	45	<100	<1	<100	<1	<10

¹ Identificatie verbinding niet geheel zeker

Tabel 13

Aangetroffen hormonen bij mestverwerkende installaties.

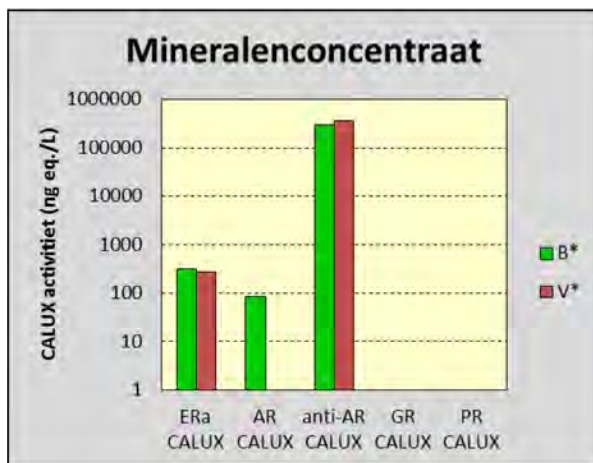
Monster code	Type monster	Eenheid	Nor-4-androstenedion	17 β -testosteron	Andros-4-ene-3,17-dione	5 α -dihydro-testosteron	5 β -dihydro-testosteron	Oestron	17 α -oestradiol	17 β -oestradiol	Progesteron
B*	Mest	$\mu\text{g}/\text{kg}$	<0,2	0,9	3,3	<0,2	3,7	9,0	1,2	4,9	0,02
B*	Mineralenconcentraat	$\mu\text{g}/\text{L}$	<0,2	<0,2	0,6	<0,2	<0,2	4,9	<0,05	0,4	0,02
B*	Dikke fractie	$\mu\text{g}/\text{kg}$	<0,2	7,9	43,5	83,8	64,9	21,4	2,3	14,1	0,1
B*	Effluent	$\mu\text{g}/\text{L}$	<0,01	<0,01	<0,01	<0,01	<0,01	<0,01	<0,01	<0,01	<0,01
D*	Mest	$\mu\text{g}/\text{kg}$	<0,2	<0,2	<0,2	<0,2	<0,2	9,4	1,7	5,0	0,5
D*	Mineralenconcentraat	$\mu\text{g}/\text{L}$	0,2	<0,2	<0,2	<0,2	<0,2	5,9	2,0	0,6	0,1
D*	Dikke fractie	$\mu\text{g}/\text{kg}$	<0,2	5,6	4,3	24,3	29,3	17	1,0	14,4	1,2
D*	Effluent	$\mu\text{g}/\text{L}$	<0,01	<0,01	0,01	<0,01	<0,01	0,4	0,03	0,03	<0,01

6.2.2 Toepassing mineralenconcentraat op de bodem

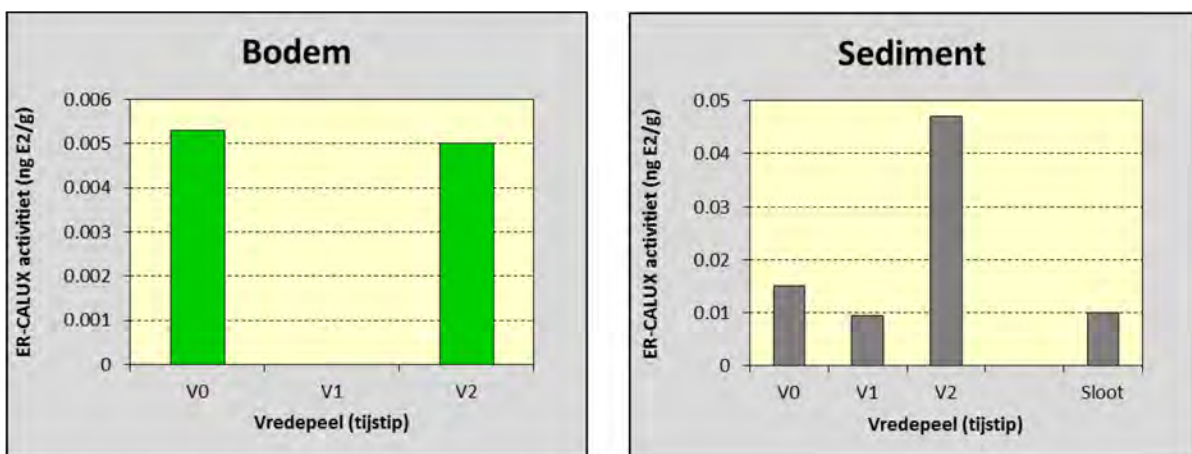
Zoals eerder al is aangegeven was de zomer van 2013 zeer droog. Voor Vredepeel betekende dit dat de drainage van de proefvelden de hele zomer niet heeft gelopen. Pas op 7 november is de drain gaan lopen. Er is toen water uit de drain verzameld en vier dagen later sediment uit de enclosure. Omdat het praktische werk van het project zich inmiddels al in de afrondende fase bevond, zijn met deze monsters geen CALUX bepalingen meer gedaan maar nog wel antibiotica en hormonen gemeten.

6.2.2.1 Biologische analyses

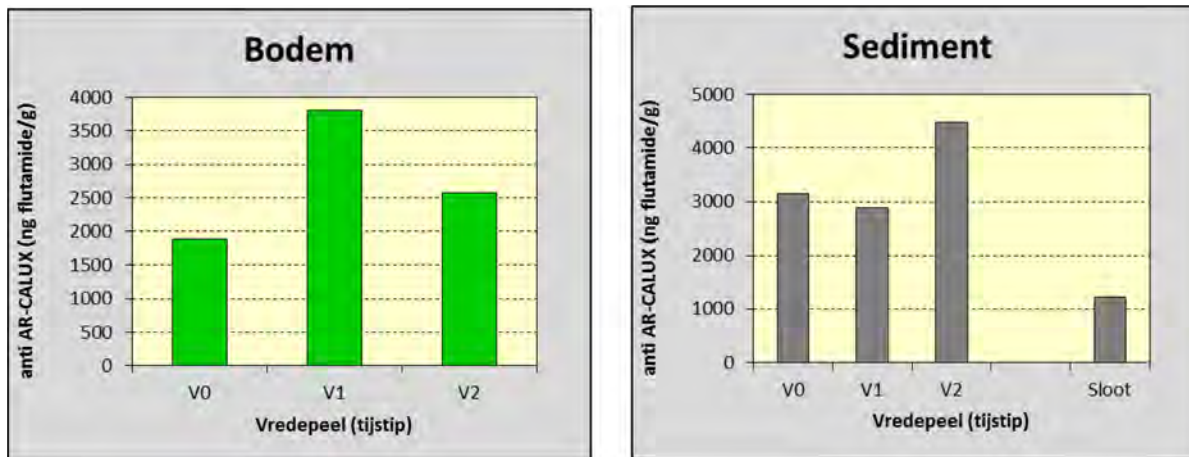
In Fig. 13 wordt de hormonale activiteit van het mineralenconcentraat dat voor de proef in Vredepeel is gebruikt (V*) vergeleken met het concentraat dat eerder door WUR-LR op dit bedrijf (B*) werd genomen. In de Figuur is duidelijk te zien dat de oestrogene activiteit en de anti-androgene activiteit in de twee concentraten nagenoeg hetzelfde zijn. In het concentraat van Vredepeel (V*) is echter geen androgene activiteit gedetecteerd, terwijl deze wel aanwezig was in het concentraat dat eerder bij de MVI zelf is verzameld (B*). Een mogelijke verklaring is dat deze activiteit verdwenen is door afbraak van androgene hormonen vóór toediening. De exacte datum waarop het concentraat V* is afgetapt en de bewaar- en transportcondities zijn niet achterhaald, maar het concentraat is op 20 juni van MVI B* naar Vredepeel vervoerd en is dus dezelfde dag nog toegediend aan de bodem.



Figuur 13 Vergelijking van de hormonale activiteit in het mineralenconcentraat van mestverwerkende installatie B* met de activiteit in concentraat afkomstig van hetzelfde bedrijf dat in Vredepeel aan de bodem is toegediend (V*).



Figuur 14 Oestrogene hormonale activiteit de bodem van het proefperceel te Vredepeel en in het sediment van de enclosure onder de drain van dit perceel gemeten met de ER-CALUX assay.



Figuur 15 Anti-androgene hormonale activiteit de bodem van het proefperceel te Vredepeel en in het sediment van de enclosure onder de drain van dit perceel gemeten met de anti AR-CALUX assay.

In de bodem en het sediment uit de drain van het proefperceel werd voornamelijk oestrogene en anti-androgene activiteit gemeten (Fig. 14 en Fig. 15). Dat er geen androgene, glucocorticoïde of progestagene activiteit voorkwam werd ook niet verwacht omdat dit ook niet in het toegepaste mineralenconcentraat (V*) werd gemeten (Fig. 13).

De oestrogene activiteit in de bodem gemeten met de ER-CALUX vertoont een onverwacht patroon (Fig. 14). Waar een toename zou kunnen worden verwacht door het aanwenden van het concentraat, neemt de activiteit af twee weken na toediening van het mineralenconcentraat (V1) om vervolgens na twee maanden weer toe te nemen. De gemeten oestrogene activiteit ligt echter dermate dicht bij de detectiegrens van 0,005 ng E2 eq./g dat hier sprake van ruis kan zijn. In het sediment is de ER-respons een factor 10 hoger. Hier neemt de activiteit toe op tijdstip V2, twee maanden na het toedienen van het concentraat op het perceel. Een goede verklaring voor dit fenomeen is er niet omdat er in de tussentijd geen drainage heeft plaats gevonden. In het sediment van de sloot naast de drain wordt ook ER-activiteit gemeten. Het is onduidelijk waar de licht verhoogde oestrogene activiteit in de sedimenten vandaan komt, zeker in het sediment in de enclosure dat normaliter nog schoon zou moeten zijn. Voor zowel de bodem als het sediment geldt dat er al oestrogene activiteit gemeten wordt vóór toediening van het mineralenconcentraat.

Het monster van het sediment uit de enclosure op tijdstip T=1 (V1) is het enige monster van Vredepeel waarin androgene activiteit werd vastgesteld: 0,24 ng dihydrotestosteron eq./g. Nog opvallender is dat dit monster als enige uit het hele project detecteerbare hoeveelheden glucocorticoïde en progestagene activiteit bevat: respectievelijk 1,6 ng dexamethason eq./g (GR-CALUX) en 0,11 ng Org2058 eq./g (PR-CALUX). Omdat dit sediment in principe schoon zou moeten zijn, kan men zich afvragen of hier niet sprake is van besmetting van het monster uit een onbekende bron.

Net als in Pilot 2 en Pilot 3 wordt in de bodem en in het bemonsterde sediment van Vredepeel anti-androgene activiteit gemeten (Fig. 15). Al op tijdstip V0, vóór toepassing van het concentraat op het perceel, wordt deze activiteit gemeten. In de bodem is er twee weken na toepassen van het mineralenconcentraat een verdubbeling van deze activiteit en vervolgens weer een afname na twee maanden (V2). Dit kan samenhangen met de toediening van het mineralenconcentraat omdat dit een hoge anti-androgene activiteit bevat (Fig. 13). In het sediment blijft de activiteit min of meer gelijk en deze is ook aanwezig in de sloot naast de enclosure (Fig. 15). Net als voor de oestrogene activiteit is het onduidelijk waar deze anti-androgene activiteit vandaan komt. Een mogelijke oorzaak kan zijn inwaaierend stof.

In de grondwatermonsters die te Vredepeel werden genomen, is geen enkele activiteit gemeten met de vijf verschillende CALUX assays, noch vóór noch na toediening van het mineralenconcentraat aan de akker. Alle waarden waren onder de kwantificatielimiet. In het oppervlaktewater van de sloot op

tijdstip V0 werd met de ER-CALUX en de anti AR-CALUX een geringe activiteit gedetecteerd (0,56 ng 17 β -oestradiol eq./L en ca. 20.000 ng flutamide eq./L respectievelijk). Hier is dus wederom sprake van hormonale activiteit vóór toediening van het mineralenconcentraat.

6.2.2.2 Chemische analyses

De resultaten van de antibiotica en hormonen die in de monsters van Vredepeel eniger maal werden gevonden, worden gepresenteerd in Tabel 14.

Tabel 14

Aangetroffen antibiotica en hormonen in sediment, bodem en grondwater op of naast het proefperceel te Vredepeel.

		Eenheid	Oxytetra- cycline	Sulfa- diazine	Sulfadi- midine	Andros- 4-ene- 3,17- dione	Oestron	17 β -oestradiol	Progesteron
V*	Mineralen- concentraat	$\mu\text{g/L}$	<1	28	<1	-	-	-	-
V0	Bodem	$\mu\text{g/kg}$	<50	<1	<1	0,2	<0,2	<0,05	0,5
V1	Bodem	$\mu\text{g/kg}$	ntb	<1	<1	<0,2	0,4	<0,05	<0,1
V2	Bodem	$\mu\text{g/kg}$	ntb	<1	<1	<0,2	<0,2	0,1	0,8
V0	Grondwater	ng/L	<1000	<2	12	<10	<10	<10	<10
V1	Grondwater	ng/L	<1000	<1	3,8	<10	<10	<10	<10
V2	Grondwater	ng/L	<1000	<5	<1	<10	<10	<10	<10
V3	Water uit drain	ng/L	<1000	<500	<500	<10	<10	<10	<10
V0	Sediment drain	$\mu\text{g/kg}$	<50	<1	<1	<0,2	1,0	<0,05	<0,1
V1	Sediment drain	$\mu\text{g/kg}$	<50	<1	<1	<0,2	<0,2	<0,05	0,2
V2	Sediment drain	$\mu\text{g/kg}$	<50	<1	<1	<0,2	0,3	0,1	<0,1
V3	Sediment drain	$\mu\text{g/kg}$	1,4	<1	<1	0,7	0,4	<0,05	0,2

ntb: interne standaard wordt niet teruggevonden in dit monster, hierdoor kan geen resultaat worden afgegeven

Het mineralenconcentraat dat is gebruikt voor bemesting (V*) is geanalyseerd op antibiotica. Slechts één antibioticum, sulfadiazine, werd aangetroffen, in een concentratie van 28 $\mu\text{g/kg}$. Andere antibiotica werden niet gedetecteerd. Als dit concentraat wordt vergeleken met dat van de mestverwerkende installatie zelf, valt op dat dit het concentraat uit de MVI (B*) een hoger gehalte sulfadiazine bevat, namelijk, 225 $\mu\text{g/kg}$, en dat naast sulfadiazine ook de tetracycline antibiotica oxytetracycline (42 $\mu\text{g/kg}$) en doxycycline (116 $\mu\text{g/kg}$) zijn gemeten, zij het dat de identiteit van deze twee stoffen in het monster niet helemaal zeker is (zie Tabel 12).

In de bodem van locatie Vredepeel zijn geen antibiotica aangetroffen. Wel zijn enkele hormonen gemeten, te weten te weten andros-4-ene-3,17-dione (een afbraakproduct van mannelijke hormonen en/of vrouwelijke zwangerschapshormonen), de natuurlijke vrouwelijke oestrogene hormonen oestron en 17 β -oestradiol en het zwangerschapshormoon progesteron (Tabel 14). In de bodem zijn de hormoonconcentraties maximaal 1 $\mu\text{g/kg}$, dat wil zeggen in de meeste gevallen net boven de kwantificatielimiet. Ook is er in de bodem en het sediment geen duidelijke trend in de tijd.

In grondwater is slechts één antibioticum aangetroffen, sulfadimidine (Tabel 14). Andere antibiotica werden niet gedetecteerd (kwantificatielimiet 1 -10 ng/L) en hormonen ook niet (kwantificatielimiten allen 0,01 $\mu\text{g/L}$). De concentraties van sulfadimidine nemen af in de tijd: 12 ng/L op tijdstip T=0 (V0), 5,8 ng/L na 2 weken (V1) en beneden de detectiegrens van 1 ng/L na twee maanden (V2). Het is onduidelijk waar dit sulfadimidine vandaan komt omdat het kennelijk al vóór de toediening van het concentraat op de bodem van het perceel in het grondwater aanwezig is. Het werd bovendien niet in

het gebruikte mineralenconcentraat (V*) gevonden, noch in het concentraat dat aan de MVI zelf werd afgetapt (B*).

In sediment in het drainagesysteem werden geen antibiotica aangetroffen (kwantificatielimiet 1-100 µg/kg). Wel werden net als in de bodem enkele hormonen gevonden, te weten de natuurlijke vrouwelijke oestrogene hormonen oestron en 17β-oestradiol en het zwangerschapshormoon progesteron. De concentraties waren maximaal 1 µg/kg, dat wil zeggen in de meeste gevallen net boven de kwantificatielimiet (Tabel 14). Er is ook hier geen consistente trend in de tijd waarneembaar.

Van de monsters die na het drainage evenement werden genomen, is in het drainagewater geen enkel antibioticum vastgesteld. De kwantificatielimiet van deze extra serie analyses was echter dermate hoog, 500-1.000 ng/L, dat er aan deze metingen geen conclusies kunnen worden verbonden. De kwantificatielimiet was veel hoger dan voor de eerdere watermonsters, met name voor sulfonamiden en quinolonen. Er werden in dit drainagewater ook geen hormonen gevonden.

Het sediment in de enclosure op tijdstip V3 na de drainage bevatte oxytetracycline, 1,4 µg/kg. Of dit het gevolg is van uitspoeling van drainagewater met resten van het mineralenconcentraat is niet vast te stellen. Het concentraat van MVI B* waaruit het gebruikte concentraat afkomstig is, bevatte weliswaar mogelijk meetbare concentraties oxytetracycline (Tabel 12, de identificatie was niet geheel zeker), maar de detectiegrens in het sediment op de tijdstippen V0, V1 en V2 was 50 µg/kg. Dit is dus veel hoger dan in dit extra sedimentmonster. Daarnaast is oxytetracycline niet vastgesteld in het mineralenconcentraat V* dat op de proefakker werd gebracht.

6.3 Discussie & risico-evaluatie

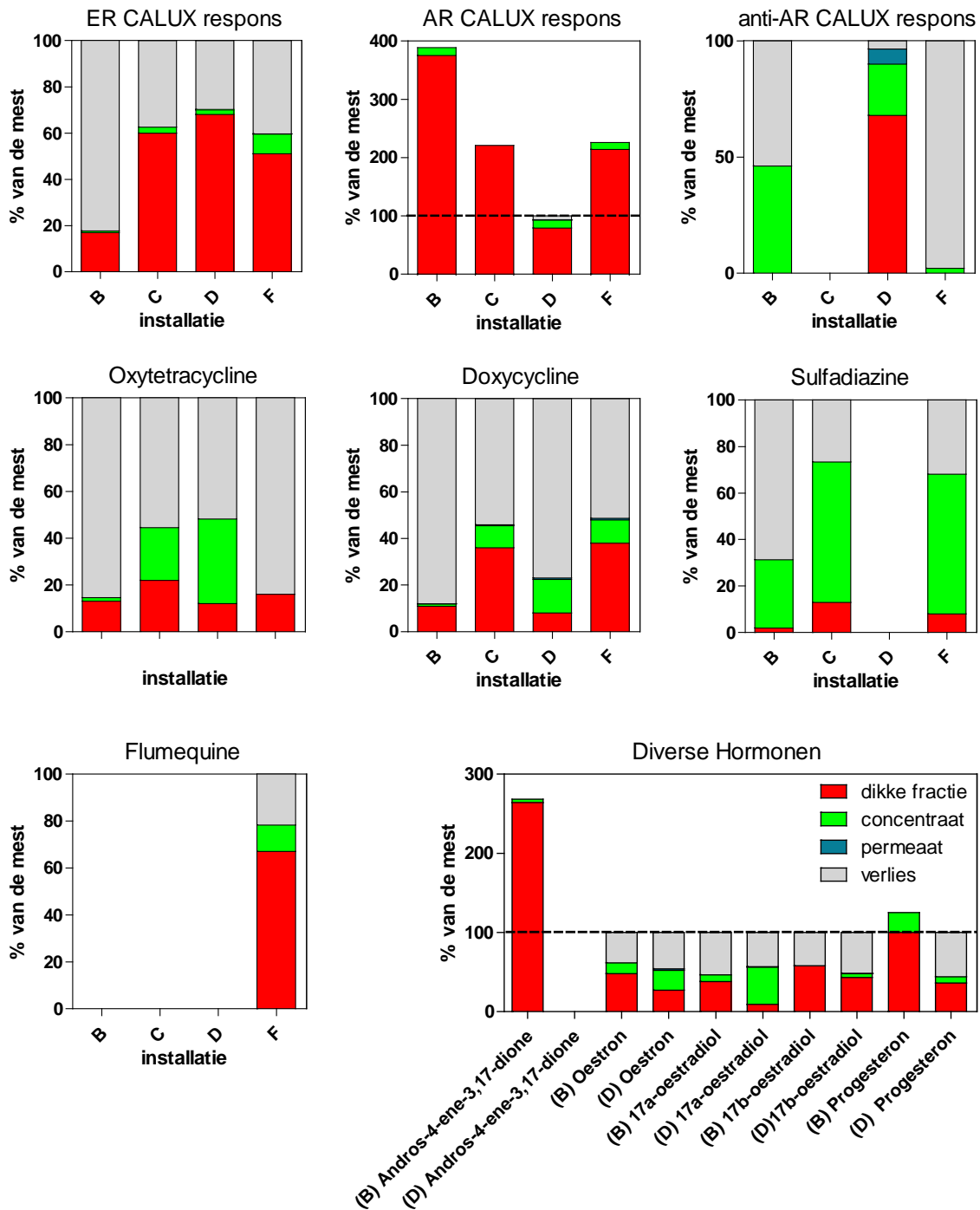
Door de gemiddelde vrachten in en uit de mestverwerkende installaties (Tabel 11, paragraaf 6.1.1) te combineren met de gemeten concentraties stoffen en gemeten parameterwaarden (CALUX) in deze stromen kan een eenvoudige massabalans opgesteld worden (Figuur 16, gegevens in Bijlage 8.). De resultaten van deze exercitie moeten met enige voorzichtigheid worden geïnterpreteerd, omdat de stromen normaliter zullen variëren en de gemeten concentraties in de fracties een momentopname zijn. Er kan echter wel een aantal algemene conclusies worden getrokken.

Hoewel het concentraat en het effluent van bedrijf D* afwijken van de andere bedrijven (de dikke fractie, het concentraat en het effluent bevatten veel grotere fracties van diverse stoffen en effecten) wordt doorgaans het volgende geobserveerd. Vaak verdwijnt een deel van het effect en een deel van de geneesmiddelen en hormonen tijdens het scheiden van de fracties. Waarschijnlijk worden de stoffen tijdens de toegepaste processen deels omgezet of afgebroken. Tevens valt op dat (bij bedrijf B*, C* en F*) het leeuwendeel van de hormonale effecten, hormonen, tetracyclines en quinolonen in de dikke fractie terecht komt, er soms nog een klein deel in het concentraat wordt aangetroffen en in het effluent doorgaans de concentraties en effecten niet meetbaar zijn. De fractie van de CALUX-activiteit of van de stof die in het effluent terecht komt is over het algemeen minder dan 1%. De hier geschetste verdeling is te verklaren vanuit de fysisch chemische eigenschappen van de stoffen en de stoffen verantwoordelijk voor de effecten. De aangetroffen stoffen hechten doorgaans sterk aan organisch materiaal, waardoor maar een klein deel in de waterige fractie terecht komt.

De fractie hormonale activiteit, hormonen of antibiotica in het mineralenconcentraat is in de meeste gevallen lager dan in de dikke fractie. Uitzondering is het antibioticum sulfadiazine dat voornamelijk in de het concentraat terechtkomt. De sulfonamiden, zoals sulfadiazine, zijn goed oplosbaar en adsorberen veel minder sterk aan organisch materiaal (Rabolle *et al.* 2000, ter Laak *et al.* 2006). Dit verklaart dat deze groep antibiotica voor een belangrijk deel in het concentraat wordt terug gevonden en laat zien dat de manier van scheiding en de kwaliteit van scheiding een grote invloed op de verdeling van stoffen over de fracties kan hebben.

De afwijking van de resultaten van bedrijf D*, met name in het effluent, zijn mogelijk een resultaat van suboptimale scheiding van de diverse fracties met omgekeerde osmose. Dit bedrijf gebruikt daarnaast als enige een vijzelpers in plaats van een zeefbandpers. Mogelijk hangen de gemeten hoge oestrogene en anti-androgene activiteit in deze fractie samen met de ander wijze van ontwatering bij deze installatie.

De AR-calux activiteit in de dikke fractie neemt op drie van de vier locaties toe ten opzichte van de mest. Een verklaring hiervoor kan gezocht worden in het samenspel van verschillende steroïdhormonen. Stoffen met een anti-androgene werking in de mest kunnen bijvoorbeeld de activiteit van androgene stoffen maskeren. Als de anti-androgenen worden afgebroken tijdens de mestverwerking zal de androgene activiteit in dat geval toenemen. Ook is het mogelijk dat er afbraakproducten worden gevormd met een androgene werking, bijvoorbeeld de stof androsenedione, die toeneemt in de dikke fractie op de bedrijven waar aanvullend hormonen zijn gemeten (B en D). Deze stof, ook wel bekend als 17-ketotestosterone, is de voorloper waaruit zowel natuurlijke mannelijke als vrouwelijke hormonen worden gevormd. Een complicerende factor is dat veel steroïde hormonen activiteit vertonen op meerdere receptoren, waarbij er één activiteit dominant is (Li *et al.*, 2010; Roy *et al.*, 2004).



Figuur 16 Massabalans van effecten en stoffen in de verschillende mestfracties.

Om een goede inschatting van het risico van mestverwerking te maken is het van belang om de gangbare toepassing van mest op het land te vergelijken met de toepassing van het concentraat en de routes die de dikke fractie en het effluent volgen. De weergave in Figuur 16 verstrekt inzicht in de verdeling van effecten en stoffen over de verschillende fracties en helpt daarmee de risico-evaluatie van de toepassing van deze fracties en de emissie van het permeaat.

Zonder te corrigeren voor (kleine) verschillen in toepassingsvolumina van drijfmest en concentraat zorgt de scheiding van fracties van de mest en het gebruik van concentraat voor een sterke reductie van de totale emissies van diverse hormonen, tetracyclines en flumequine via bemesting, terwijl de emissies van sulfadimidine waarschijnlijk vergelijkbaar is aangezien een belangrijk deel van deze stof in de mest uiteindelijk in het concentraat terecht komt. Bij het scheiden van de mest ontstaan er echter wel andere fracties zoals de dikke fractie en het permeaat die via andere routes in het milieu terecht kunnen komen. Het permeaat zou in oppervlaktewater geloosd kunnen worden en de dikke fractie kan worden gebruikt voor bijvoorbeeld vergisting, verbranding of als meststof. Het is dus van belang om bij het lozen van het permeaat (effluent) en het toepassen van de dikke fractie ook rekening wordt gehouden met de verontreinigingen in deze fractie.

De meetresultaten worden vergeleken met de drempelwaarden uit Bijlage 6. Voor CALUX metingen is dit alleen mogelijk voor vloeibare monsters, dus alleen voor concentraat en effluent. De oestrogene en androgene activiteit in het effluent van installatie D* is hoog, maar deze valt binnen de range die in RWZI-effluenten wordt aangetroffen. De ER-CALUX activiteit overschrijdt echter wel de KRW conceptnorm voor 17 β -oestradiol en de humane triggerwaarde. Bij ongezuiverde lozing van dit effluent en weinig verdunning in het ontvangende oppervlaktewater kunnen risico's voor het ecosysteem niet uitgesloten worden. Dat mensen dit effluent onbehandeld en onverdund binnen krijgen is onwaarschijnlijk.

In de concentraten is ook hoge oestrogene activiteit gemeten. Deze matrix is niet eerder gemeten met de ER-CALUX, maar de KRW norm en humane triggerwaarde worden overschreden. In het concentraat wordt ook de humane triggerwaarde overschreden voor de AR-CALUX (dihydrotestosteron) en tevens wordt de effectconcentratie voor de anti-AR CALUX uit de literatuur overschreden voor het concentraat van bedrijven B* en C* (in effluent niet).

De hoge oestrogene activiteit van het effluent van MVI D* gemeten met de ER-CALUX wordt bevestigd door directe meting van 17 β -oestradiol in dit effluent. Het gehalte zelf overschrijdt ook de concept KRW norm van 0,4 ng/L. Voor het effluent van B* blijft dit onduidelijk omdat de norm lager is dan de kwantificatielimiet. De concentratie 17 β -oestradiol in de dikke fractie overschrijdt de ad hoc MTR waarde (Maximaal Toelaatbaar Risico) in bodem en sediment. Die in mest (alleen voor D* gemeten) doet dit niet. In Vredepeel wordt na toediening van het concentraat aan de bodem enkele keren 17 β -oestradiol aangetroffen (Tabel 14). Ook wordt de stof gedetecteerd in het sediment. De ad hoc MTR in bodem en sediment wordt echter niet overschreden. De gehalten 17 β -oestradiol in grondwater kunnen niet gevoelig genoeg gemeten worden om een beoordeling te kunnen uitvoeren. De kwantificatielimiet is hoger dan de KRW concept-norm.

Voor de toediening van het mineralenconcentraat aan de bodem van de proefakker te Vredepeel is ook gepoogd een massabalans op te stellen op basis van de opgebrachte hoeveelheid (18 m³/ha, een laagje van 1,8 mm dik). Dit leidde echter niet tot betekenisvolle resultaten. De voorspelde concentraties in de bodem op basis van de gemeten concentraties antibiotica en steroidhormonen in het mineralenconcentraat van Vredepeel (en MVI B*) lagen onder de gerapporteerde kwantificatielimieten. De meeste stoffen werden inderdaad niet terug gevonden. Daarnaast werden sommige hormonale activiteiten en stoffen al voor opbrengen van het concentraat op het land aangetroffen. Alleen voor de anti-AR CALUX kon een volledige balans worden gemaakt. Hierbij viel echter op dat de gemeten activiteit in de bodem ca. 1000 maal hoger was dan voorspeld, ook al vóór toediening van het concentraat. Dit doet vermoeden dat anti-androgene activiteit, zoals gemeten met de anti-AR CALUX, al van nature in bodems aanwezig is. Mogelijk worden hiermee ook de hoge activiteiten in de overige bodems en sedimenten uit het project verklaard.

In mest zijn met name hoge concentraties tetracyclines en hun afbraakproducten aangetroffen. Ook werden twee sulfonamiden en een quinolon aangetoond (zie Tabel 12). In het sediment en de bodem van Vredepeel zijn bij deze pilot slechts spoortjes van antibiotica en geen tetracyclines aangetroffen. Tetracyclines worden in grote hoeveelheden in de veehouderij gebruikt (Mevius *et al.*, 2007; Bondt *et al.*, 2012). Tetracyclines sorberen echter sterk aan vaste fasen zoals bodem, mest en zuiveringszand (Rabolle and Spliid, 2000; Sassman & Laa, 2005; ter Laak *et al.*, 2006) en bovendien zijn de detectiegrenzen van de betreffende tetracyclines relatief hoog. Dit heeft er waarschijnlijk toe geleid dat deze groep antibiotica niet is aangetroffen in het sediment, de bodem of het grondwater. Sulfonamiden hechten veel minder sterk aan bodem en kunnen daarom wel uitspoelen naar grondwater (Rabolle en Spliid, 2000; Thiele-Bruhn *et al.*, 2004; ter Laak *et al.*, 2006). Hierbij moet wel worden opgemerkt dat bij de antibiotica, met name bij de tetracyclines en in mindere mate bij de quinolonen, de interne standaarden niet altijd teruggevonden werden. Voor deze antibiotica voldoet de opwerking van de monsters dus nog niet goed. In het grondwater onder de bemeste akkers zijn sporen antibiotica en metabolieten aangetoond op het ng/L niveau in concentraties rond de kwantificatielimiet (<1 - 2,2 ng/L).

Voor vergelijking van de gemeten gehalten antibiotica is er alleen een PNEC waarde voor oxytetracycline in water (0,31 µg/l). Deze wordt overschreden in mineralenconcentraat, maar het concentraat komt uiteraard niet onbehandeld in watergangen terecht. In effluent kan niet gevoelig genoeg gemeten worden, d.w.z. de PNEC waarde is lager dan de kwantificatielimiet.

7 Algemene discussie

7.1 Hoe representatief is het onderzoek?

Om de resultaten van het huidige onderzoek te kunnen extrapoleren is het belangrijk om na te gaan hoe representatief de diverse pilot onderzoeken zijn voor de situatie in Nederland. Hierbij kan men zich een aantal vragen stellen:

- Komt de situatie van de pilots en de onderzoekslocaties veel voor in Nederland?
- Is het onderzoek voldoende gerepliceerd in de ruimte en/of de tijd?
- Waren de omstandigheden tijdens het onderzoek representatief?

Hieronder worden de vier pilots studies besproken in het licht van deze aandachtspunten.

Pilot 1 Ontwormingsmiddelen in de paardenhouderij - De afgelopen decennia is de paardenhouderij een 'booming business' geweest. Door het hele land heen liggen maneges, pensions en rijstallen. Het aantal paarden is sinds 1980 meer dan verdubbeld (www.compendiumvoordeleefomgeving.nl). Het huidige aantal paarden in Nederland wordt geschat op rond de 400.000. In Twente, Noord Brabant en aan de randen van de Veluwe komt paardenhouderij relatief veel voor (van der Windt *et al.*, 2007). De bedrijven die in dit onderzoek zijn bemonsterd verschillen weliswaar qua aantal paarden, type paardenhouderij en bodemsoort, maar over het algemeen mag worden gesteld dat het doorsnee bedrijven waren die representatief zijn voor heel Nederland. Het onderzoek naar ontwormingsmiddelen is uitgevoerd bij vijf bedrijven met paarden verspreid door heel Noord-Brabant. Per bedrijf is een samengesteld mestmonster genomen en zijn in de meeste gevallen twee (meng)monsters genomen van de bodem, het grondwater, sediment uit de omringende sloten en oppervlaktewater. De bedrijven werden één maal bezocht; er is dus geen replicatie in de tijd. De bedrijven werden echter bemonsterd in de tijd van het jaar dat de paarden veel in de wei stonden en dat er regelmatig behandelingen met ontwormingsmiddelen plaats vonden. Met de gebruikte analysemethoden kon ivermectine (en moxidectine) tot op effectniveau goed aangetoond worden in de genomen monsters. Dit alles overwegende mag gesteld worden dat de resultaten van deze pilot opgeschaald mogen worden naar heel Nederland.

Pilot 2 bagger op de kant (Groesbeek) - Er bestaat weinig inzicht in het aantal slibvangen in Nederland en al helemaal weinig inzicht in het aantal slibvangen in stromende wateren die worden gevoed door RWZI effluënten met daarin resten van geneesmiddelen en hormonen. We weten dus niet precies hoe vaak de situatie van de Leygraaf in Groesbeek zich voordoet in Nederland. Mogelijk is deze 'hot spot' redelijk uniek. Door de experimentele aanpak van het op de kant zetten van de bagger uit de Leygraaf en de meting van de verontreinigingen voor en na deze baggeractie zou wel een goed beeld verkregen zijn van de eventuele verspreiding van de nieuwe verontreinigingen uit de bagger naar de bodem en het grondwater en van het causale verband tussen de baggeractie en de bevindingen. Er werd echter nauwelijks verspreiding gemeten. Mogelijk is dit het gevolg van sterke binding van de betreffende geneesmiddelen en hormonen aan de bagger. Hierbij moet dan echter ook weer aangetekend worden dat er door de zeer droge zomer weinig percolatie zal hebben plaatsgevonden. De monitoringsperiode van twee maanden (en drie keer enkelvoudige monsternamen) is ook te kort om vast te stellen of de vele nieuwe verontreinigingen zoals hormonen en geneesmiddelen die wel in het slib bleken te zitten later alsnog in de bodem terecht komen, bijvoorbeeld door vermenging door de activiteit van regenwormen.

Het op de kant zetten van (schone) bagger uit watergangen gebeurt in Nederland op grote schaal (Harmsen *et al.*, 2012). Echter, de aanbeveling uit de CUWVO nota's riooloverstorten (1988, 1990) is om maaisel en bagger vanuit bijvoorbeeld kopsloten waarop een riooloverstort zit af te voeren en te behandelen als licht verontreinigd. Dit SKB onderzoek is dus te zien als een onderbouwing achteraf vanuit nieuwe verontreinigingen voor deze manier van werken. De praktijk van afvoeren van slib geldt ook voor watergangen met relatief weinig verdunning, waarop een rioolwaterzuiveringsinrichting

(RWZI) loost. Dat deze aanbevelingen goed worden uitgevoerd blijkt ook wel uit het feit dat het niet meeviel om voor dit onderzoek een situatie te vinden waar door een RWZI vervuild slib op de kant werd gezet. Vooraf was deze situatie ingeschat als veel voorkomend.

Als verontreinigde bagger op de bodem wordt gestort, kunnen de persistentere verbindingen uiteindelijk in de bodem en het grondwater terecht komen. Voor de in dit onderzoek bestudeerde nieuwe verontreinigingen als geneesmiddelen en hormonen geldt dat zij vooral door riooloverstorten en RWZI lozingen het oppervlaktewater bereiken. De meeste stoffen hebben meer affiniteit met slib dan met water, zodat vooral de waterbodembodem verontreinigd zal raken.

De concentraties in het slib zullen dus het hoogst zijn bij riooloverstorten en RWZI lozingen. Dit soort situaties is in Nederland zeer talrijk. In 2012 waren er in Nederland 343 RWZIs waarvan er 241 op regionaal water loosden en 102 op de Rijkswateren (CBS, StatWeb). Bovendien zijn er 13.700 riooloverstorten die afvalwater afvoeren (Meijer *et al.*, 1998) vanuit gemengde rioolstelsels (Rioned, 2013). De Unie van Waterschappen adviseert om baggerspecie nabij risicovolle overstorten (binnen 500m), ongeacht de kwaliteit, af te voeren. De onderzoeksmethodiek naar pathogenen is namelijk onvoldoende nauwkeurig om risico's uit te sluiten (Beleidslijn Bagger uit 2004).

Pilot 3 Infiltrerend afvalwater - Het aantal studielocaties waar infiltrerend afvalwater werd onderzocht was twee. Deze locaties verschilden sterk van elkaar. In Doorn was sprake van een overstort in een vijver en in Amersfoort van een voormalig lekkend riool.

Zoals hierboven gesteld zijn er 13.700 riooloverstorten uit gemengde stelsels in Nederland, waarvan de case van Doorn er een is. In nota's van Coördinatiecommissie Uitvoering Wet Verontreiniging Oppervlaktewater (CUWVO) staan richtlijnen voor de bergings- en pompcapaciteit in riolen. Voor 90 tot 99% van alle overstorten is de frequentie en het aantal m³ van riooloverstortingen teruggebracht tot 'niet erg dus aanvaardbaar'. Het overstort in Doorn behoort hiertoe. Er resteren enkele overstortingen waar extra maatregelen moeten worden genomen op grond van een te groot effect op de kwaliteit van het ontvangende oppervlaktewater. Echter, objectieve en gedragen criteria om het effect op het ontvangende water te toetsen ontbreken.

Lekkende riolen komen op veel plaatsen voor. Alleen al het aantal bestaande doorboringen wordt op 16.000 geschat (Oosterom & Gastkemper, zonder datum). De reeds aangehaalde studie van Rutsch *et al.* (2008) liet zien dat lekkage regelmatig voorkomt met lekverliezen van 1-56%. Ondanks de moeite die tijdens dit project moest worden gedaan om een geschikte locatie te vinden die ook nog eens te bemonsteren was, kan worden aangenomen dat diverse (oude) riolen lek zijn. Als deze riolen boven de grondwaterspiegel liggen kan afvalwater in de bodem lekken. Overigens zijn er in Nederland nog meer kilometers riolering die onder het grondwatervniveau liggen. Wanneer deze riolering lek raakt (en het geen persleiding betreft), stroomt grondwater de riolering in.

Omdat dit zich allemaal in de ondergrond afspeelt is de exacte locatie en de omvang moeilijk te bepalen. Voor beide genoemde plekken geldt dat er slechts een momentopname is gemaakt en dat er maar enkele monsters genomen zijn. Met een grotere monsterinspanning is te verwachten dat de kans op het vinden van nieuwe verontreinigingen door infiltratie van afvalwater zal toenemen. Verder onderzoek zal mogelijk meer inzicht in de problematiek kunnen brengen. Dergelijk onderzoek is echter relatief kostbaar omdat bemonstering complex is.

Pilot 4 Toepassing van mineralenconcentraat als kunstmestvervanger - Nederland telt op dit moment verschillende grote en kleinere mestverwerkende installaties. Sommige zijn volledig operationeel en andere verkeren nog in de fase van vergunningverlening. De meeste installaties bevinden zich in zuidelijk Nederland in de regio's waar veel intensieve veehouderij bestaat. Het gebruik van mineralenconcentraat is momenteel nog beperkt, omdat het product nog het label heeft van dierlijke mest en daarom alleen met ontheffing als kunstmestvervanger kan worden toegepast. Als het label dierlijke mest eraf is, zal het gebruik naar verwachting sterk toenemen.

In ons onderzoek zijn vier MVI's bemonsterd. Hiermee is het aantal MVI's voldoende gerepliceerd om algemenere conclusies te kunnen trekken. De replicatie van de MVI's compenseert deels het feit dat

de diverse stromen in en uit de installaties slechts één keer, dus op één enkel moment zijn bemonsterd. Het was oorspronkelijk de bedoeling om ook de pilots waar het mineralenconcentraat als kunstmestvervanger wordt toegepast een aantal keer te repliceren. Omdat in deze akkers en weilanden echter ook regulier drijfmest wordt geïnjecteerd was dit geen goede keuze. Eventueel gedetecteerde antibiotica en hormonen in de bodem zouden niet herleidbaar zijn geweest tot alleen het mineralenconcentraat. Er werd een oplossing gevonden door de studie op het proefbedrijf voor de akkerbouw te Vredepeel uit te voeren. Voor dit deel van de studie geldt echter, net zoals voor de experimentele baggeractie in Groesbeek, dat er alleen gerepliceerd is in de tijd (T0, T1 en T2), dat de studieperiode relatief kort was en dat er in de studieperiode nauwelijks regen van betekenis is gevallen. De droogte was dusdanig dat de drains van het perceel pas in november weer water hebben afgevoerd.

7.2 Waren de monster- en meetmethoden adequaat?

In het project is getracht om zo representatief mogelijke monsters te nemen van de verschillende milieucompartimenten. Behalve het grondwater, bestonden alle omgevingsmonsters uit composietmonsters. Van sedimenten en oppervlaktewater werden ten minste vijf sub-monsters genomen en in het geval van de bodem in Pilot 1 en 4 zelfs veertig.

Het oorspronkelijke idee was om met een eerste biologische screening die monsters en locaties te selecteren met de grootste kans op risico's van nieuwe verontreinigingen. Voor deze opzet zijn uiteindelijk alleen de CALUX assays voor hormonale activiteit ingezet. De op biologische leest geschoeide antibiotica screeningsassay vonden wij minder exact en deze bleek duurder dan chemische analyse van deze groep medicijnen. Van de toegepaste CALUX assays werden met de ER- (oestrogene, vervrouwelijkende, activiteit) en de AR-CALUX assay (androgene, vermannelijkende, activiteit) bruikbare resultaten verkregen waarmee onderscheid tussen monsters en locaties kon worden gemaakt. Voor deze twee assays is ook duidelijk welk soort stoffen de waargenomen activiteit kunnen veroorzaken.

De meetresultaten van de anti-AR CALUX bleken veel minder onderscheidend. Samenvattend zou men kunnen zeggen dat in waterige monsters weliswaar regelmatig een positieve respons is gevonden, maar dat in alle bodem- en sedimentmonsters anti-androgene activiteit gemeten is, ook in bodems en sedimenten waarvan verondersteld mocht worden dat deze nog 'schoon' waren. Het is in het geval van de anti-androgene activiteit niet meteen duidelijk welke stoffen deze respons veroorzaakten. Er zijn veel stoffen die een dergelijke activiteit kunnen veroorzaken (zie paragraaf 4.3), maar de waargenomen activiteit in een monster is niet eenvoudig te herleiden tot bepaalde verbindingen. Van de genoemde stoffen lijken PAK's de meest waarschijnlijke veroorzaker. Deze stoffen worden gevormd bij onvolledige verbranding van organisch materiaal. Ze bevinden zich onder andere in teer en roet en ze kunnen diffuus in bodem en sedimenten terecht komen door atmosferische depositie. Bovendien is het niet uit te sluiten dat van nature in het milieu aanwezige humuszuren bijdragen aan de anti-androgene activiteit. Ook de GR-CALUX (stress hormoon) en PR-CALUX assay (zwangerschapshormoon) bleken voor het huidige onderzoek niet bruikbaar. Er werd, met uitzondering van één monster geen enkele activiteit vastgesteld. In het verondersteld schone sediment van de enclosure in de drain te Vredepeel was de respons voor beide assays positief. Hiervoor is geen verklaring gevonden¹.

Om de chemische analysegegevens goed te kunnen interpreteren is het vooral van belang dat de detectie- en/of kwantificatielimit van de analyses beneden de drempelwaarden en risicogrenzen voor

¹ Van de PR-CALUX assay is het overigens verrassend dat er geen respons is gemeten. Bij de analyse van hormonen in de genomen monsters is regelmatig het zwangerschapshormoon progesteron gemeten, dat normaliter in de gemeten concentraties een PR-respons had moeten geven. In de twee geanalyseerde mineralenconcentraten bijvoorbeeld bedroeg het gemeten gehalte progesteron 0,02 en 0,1 µg/L. Omgerekend zou dit neer komen op respectievelijk 1,5 en 7,4 ng Org2058/L, ruim boven de detectiegrens van 0,17-0,19 ng Org2058/L in dit concentraat (progesteron heeft 0,074 maal de progestagene potentie van Org2058).

de betreffende stoffen (zie Bijlage 6) ligt. Voor veel stoffen, en zeker in mest, bodem en sediment, zijn er geen risicogrenzen bekend. In Tabel B6-3 in Bijlage 6 worden naast de conceptnormen voor stoffen in water ook de detectiegrenzen in water van de analyses in dit rapport gegeven. Voor de meeste stoffen ligt de detectiegrens onder deze normen en onder de andere triggerwaarden die in Bijlage 6 zijn beschreven. Uitzonderingen zijn 17 β -oestradiol, oestron en ivermectine. Voor deze drie verbindingen kunnen risico's in water niet geheel uitgesloten worden wanneer de stof niet gemeten wordt.

Van de natuurlijke oestrogene steroïde hormonen is bekend dat deze nog biologisch actief kunnen zijn onder de detectiegrens (zie o.a. Vethaak *et al.*, 2005; hetzelfde geldt voor het synthetische 17 α -ethynyl-oestradiol). De uitzonderlijk lage conceptnorm voor ivermectine is gebaseerd op het onderzoek door Garric *et al.* (2007). Dit is weliswaar goed uitgevoerd, maar de uitzonderlijke bevindingen van dit onderzoek dienen bij voorkeur door anderen bevestigd te worden.

Voor de CALUX analyses bestaan geen normen, met uitzondering voor de ER-CALUX waarvoor de meetwaarde met conceptnormen voor 17 β -oestradiol kan worden vergeleken. De detectiegrens van de ER-CALUX in water ligt net als voor de chemische analyse van 17 β -oestradiol boven de laagst gerapporteerde effectgrens.

7.3 Vergelijking van de pilots

In de voorliggende studie zijn verschillende routes van microverontreinigingen in water, sediment en bodem bestudeerd. Zowel de routes zelf als de stoffen die via deze routes in het milieu worden verspreid, verschillen sterk. In de eerste pilot is specifiek gekeken naar de verspreiding van het diergeneesmiddel ivermectine (en moxidectine) door toepassing in paardenhouderijen omdat dit middel, dat is ontwikkeld tegen parasieten in darmen van grazers, ook zeer giftig is voor organismen in mest en op de bodem. De andere drie pilots richten zich op een breder scala aan stoffen en effecten. In deze pilots zijn hormonale activiteit en concentraties van hormonen en (dier)geneesmiddelen onderzocht. Het is daarom niet mogelijk de eerste pilot te vergelijken met de andere drie pilots. De andere drie pilots kunnen door (gedeeltelijk) overlappende analyses wel onderling worden vergeleken.

In Pilots 2, 3 en 4 werden oestrogene responsen en anti-androgene responsen gemeten. Androgene responsen worden minder vaak en progestagene responsen en glucocorticoïde responsen worden nauwelijks aangetroffen. De hormonale activiteit in de verschillende matrices laat een divers beeld zien. De mest en de vaste en waterige mestfracties uit Pilot 4 (MVI) laten, niet verrassend, ordegruote hogere responsen zien dan de monsters van vaste en waterige milieumatrices. Bij het opbrengen van dit materiaal op het land worden de effecten 'verdund'. Als wordt gekeken naar de aanwezigheid van verschillende hormonen die (deels) deze responsen kunnen veroorzaken blijkt dat de hormonen eigenlijk alleen in de vaste matrices worden aangetroffen. Concentraties in de waterige matrices blijken doorgaans te laag om te kunnen worden gemeten. Alleen in één van de mineralenconcentraten en effluent van een mestverwerker is een aantal hormonen aangetroffen. De aanwezigheid in de concentraten is geen verrassing, de aanwezigheid in het effluent (permeaat) bij een van de MVI's is wel verrassend omdat verwacht wordt dat de toegepaste omgekeerde osmose membraanscheiding van concentraat en permeaat een barrière voor deze stoffen vormt.

Steroïde hormonen zoals oestrogenen, progestagenen, androgenen en glucocorticoïden hebben allen een soortgelijke chemische structuur (Bijlage 7) en eigenschappen. Ze zijn relatief hydrofoob (watervrezend), slecht oplosbaar in water en sorberen relatief sterk aan organisch materiaal in bodem, sediment of mest (Yu *et al.*, 2004). Concentraties in waterige matrices zijn daarom laag, en vaak niet meetbaar. Het aantreffen van relatief hoge fracties van deze hormonen in het concentraat (en effluent) duidt op suboptimale scheiding van de dikke fractie en de vloeibare fractie.

In Pilot 4 zijn, gezien het gebruik van geneesmiddelen in de varkenshouderij, alleen antibiotica gemeten. In de pilots 2 en 3, waar humane geneesmiddelen een rol spelen, is ook gekeken naar een breed scala aan humane geneesmiddelen. De concentraties van antibiotica in de mest en de vaste en

waterige mestfracties uit pilot 4 (MVI) laten, wederom niet verrassend, orde-grootte hogere concentraties zien dan aangetroffen in de milieumatrices bemonsterd in pilot 2, 3 en 4. Er zijn echter wel enkel uitzonderingen. Zo wordt het antibioticum sulfamethoxazol alleen aangetroffen in grondwater in Amersfoort en norfloxacin en cyprofloxacin worden enkel in sedimenten in Groesbeek en Doorn aangetroffen. Het ontbreken van deze middelen in dierlijke mest en gerelateerde monsters heeft zeer waarschijnlijk te maken met de (grotendeels) humane toepassing van deze middelen.

Humane geneesmiddelen zijn alleen in pilot 2 en 3 bestudeerd. Uit deze studie blijkt dat het sediment van Groesbeek de meeste en hoogste concentraties geneesmiddelen bevat. Ook het sediment van Doorn bevat echter een aantal geneesmiddelen. Voor deze sedimenten bestaan (voor zover bij de auteurs bekend) geen normen of streefwaarden. Concentraties in het sediment zijn echter vergelijkbaar of hoger dan aangetroffen in andere studies (Monteiro *et al.*, 2010; Camacho-Muñoz *et al.*, 2013). De aanwezigheid van deze stoffen vormt een potentieel risico voor het ecosysteem. In het oppervlaktewater van de vijver in Doorn en het grondwater in Amersfoort worden enkele geneesmiddelen aangetroffen, hun concentraties zijn lager dan beschikbare specifieke of generieke streefwaarden. Ze vormen daarom waarschijnlijk geen humaan of ecologisch risico.

7.4 Waar zijn er risico's?

Voor de inschatting van de risico's moeten enerzijds het vóórkomen en de verspreiding en anderzijds de effecten worden beschouwd. De beoordeling van de effecten is voor de onderzochte scenario's slechts beperkt mogelijk door het ontbreken van normen, grenswaarden of toxiciteitsgegevens voor de onderzochte nieuwe verontreinigingen. Echter, als de stoffen niet worden aangetroffen en/of niet verspreiden, is het risico beperkt.

Uit de resultaten blijkt het volgende.

Pilot 1 Ontwormingsmiddelen in de paardenhouderij – Op alle vijf bemonsterde paardenhouderijen is vastgesteld dat de ontwormingsmiddelen ivermectine en/of moxidectine voorkwamen in mest van behandelde dieren twee dagen na orale toediening van de middelen. De gehalten ivermectine in deze mest waren voldoende hoog om toxisch te zijn voor mestinsecten, met name mestvliegen. Op de bedrijven is niet vastgesteld dat er significante concentraties ivermectine of moxidectine voorkwamen in de bodem van weiden of in het sediment van omliggende sloten en hier worden dan ook geen ecologische risico's verwacht. Ook in water zijn de twee middelen niet terug gevonden. Hier zijn ecologische effecten echter niet geheel uit te sluiten omdat er laboratoriumstudies bekend zijn waarbij effecten op waterleven zijn gevonden onder de detectiegrenzen van de hier gebruikte methoden. Op basis van een semi-veldstudie lijkt de kans op ecosysteemeffecten echter gering.

Pilot 2 Bagger op de kant (Groesbeek) – Nieuwe verontreinigingen zijn wel aanwezig in het slib, maar verspreiden zich niet binnen twee maanden naar de bodem. Het is onduidelijk of dit op langere termijn of onder nattere omstandigheden dan tijdens de droge zomer van 2013 wel gebeurt. De verspreiding op langere termijn en de daarmee gepaard gaande risico's moeten verder worden onderzocht. Dit onderzoek vindt inmiddels plaats.

Pilot 3 Infiltrerend afvalwater – In Amersfoort konden de stoffen in de bodem onder een lekkend riool niet aangetoond worden. Dit hangt misschien samen met de praktische onmogelijkheid om onder het riool zelf en ook nog de specifieke plekken waar het riool heeft gelekt te bemonsteren. Daardoor zijn bodemverontreinigingen mogelijk gemist. In het grondwater zijn echter wel stoffen aangetoond. Deze aanwezigheid is ongewenst voor de drinkwatervoorziening maar levert voor mens en milieu geen risico op.

Het sediment bij de overstortvijver in Doorn is licht verontreinigd met steroïdhormonen en humane geneesmiddelen. Het water in de vijver bevat concentraties gelijk aan die in de Nederlandse rivieren. Hierbij worden voor zover bekend geen effecten van individuele stoffen verwacht. De oestrogene activiteit in het water overschrijdt echter wel de KRW concept-norm. Ecologische effecten op het waterleven kunnen daardoor niet worden uitgesloten. Verspreiding naar het grondwater lijkt beperkt.

Pilot 4 Toepassing van mineralenconcentraat als kunstmestvervanger – In de varkensdrijfmest die als grondstof wordt gebruikt in mestverwerkende installaties worden steroïdhormonen en antibiotica aangetroffen. Bij de mestverwerking komen deze stoffen vooral terecht in de dikke fractie en het concentraat. Het effluent bleek bij drie van de vier installaties schoon; lozing van dit water leidt dus waarschijnlijk niet tot risico's. In één effluent werden vrouwelijke steroïdhormonen gevonden (oestron, 17 α -oestradiol, 17 β -oestradiol) en een sterk verhoogde ER-CALUX respons. Wanneer een relatief grote installatie een dergelijke kwaliteit effluent loost op weinig verdunnend oppervlaktewater, is er mogelijk een risico.

Het toepassen van het mineralenconcentraat als kunstmestvervanger op de proeflocatie Vredepeel (18 m³/ha) leidde tot nauwelijks waarneembare concentraties nieuwe verontreinigingen in de bodem en het grondwater. Tijdens de studieperiode is echter zeer weinig regen gevallen.

In de praktijk komt het echter nog niet voor dat op akkers en grasland alleen mineralenconcentraat wordt toegepast. Mineralenconcentraat zal vaak toegepast worden op percelen waar ook al 'normale' drijfmest wordt toegepast. De huidige bemestingspraktijk in Nederland wordt sterk gestuurd door de mestwetgeving. De meeste boeren gebruiken eerst zoveel mogelijk hun onbewerkte dierlijke mest. De hoeveelheid die ze hiervan jaarlijks mogen aanwenden wordt vooral bepaald door de fosfaatvrucht, soms de stikstofvrucht. Aanvullend worden kunstmest en/of andere meststoffen zoals compost gebruikt. Dit tot maximaal de vrucht die in de vorm van gebruiksnormen voor N en P in de wet staan.

De in dit onderzoek onderzochte mineralenconcentraten wil men de juridische status geven van kunstmestvervanger. Dit betekent dat een product dat vrij is van hormonen, diergeneesmiddelen e.d. wordt vervangen door een product dat deze stoffen wel bevat. Toch valt deze toevoeging beperkt te noemen omdat:

- Met onbewerkte mest jaarlijks orde grootte 250 kg N/ha wordt opgebracht en met het mineralenconcentraat als bijbemesting orde grootte 100 kg N/ha; dit terwijl de stikstofconcentraties in het mineralenconcentraat liggen rond 15 g/l en in onbewerkte drijfmest nog eens de helft lager, en
- de gemeten concentraties nieuwe verontreinigingen in $\mu\text{g/l}$ in onbewerkte drijfmest doorgaans duidelijk hoger zijn gebleken dan in mineralenconcentraat.

De bijbemesting met mineralenconcentraat zal in de praktijk dus beperkt zijn.

Een ander nieuw product van mestverwerking is de dikke fractie. Als de dikke fractie in Nederland ter bemesting wordt aangewend, bepaalt het fosfaat de maximale dosis. Er wordt dan doorgaans geen onbewerkte drijfmest meer aangewend, zodat het ene product het andere vervangt. Doordat fosfaat ongeveer een factor 5 geconcentreerder in dikke fractie zit dan in de oorspronkelijke drijfmest, kunnen veel minder m³ per hectare van betreffend product worden gebruikt. Bij de fluxmetingen en de steroïdhormonen lijkt ruwweg gezegd sprake van ongeveer dezelfde concentreringsfactor. De toegediende doses per hectare is dus bij benadering gelijk bij gebruik van onbewerkte drijfmest en bij dikke fractie. Bij de antibiotica is amper een concentrering waargenomen. Hier zou de dosering bij gebruik van dikke fractie i.p.v. onbewerkte drijfmest dus afnemen. De inschatting is dus dat de dikke fractie qua hier onderzochte stoffen hetzelfde of een iets kleiner risico met zich meebrengt als gebruik van onbewerkte drijfmest

De dikke fractie wordt overigens meestal als meststof geëxporteerd; hierbij is hygiëniseren (>1 uur bij >70 °C) verplicht. Bij deze bewerkingstap zullen minder thermotolerante stoffen afbreken. Ingeschat wordt echter dat er met de meeste in de dikke fractie gevonden stoffen dan niets gebeurt.

7.5 Beleid en maatregelen

In dit hoofdstuk wordt heel kort het beleidskader rond de onderzochte pilots en verontreinigingsscenario's geschetst. Voor nieuwe verontreinigingen bestaan echter per definitie nog weinig wettelijke kaders en normen. Er zijn dus nog weinig concrete handvatten om deze stoffen aan

te pakken. Daarom wordt in dit hoofdstuk ook stilgestaan bij mogelijke risicoreducerende maatregelen. Dit zijn maatregelen die in de toekomst middels beleid kunnen worden gerealiseerd. Een aantal maatregelen om risico's van nieuwe verontreinigingen te reduceren zijn ook nu al te nemen.

Ontwormingsmiddelen in de paardenhouderij – De in dit project onderzochte antiparasitaire stoffen en de hiervan gemaakte geneesmiddelen zijn allen toegelaten in Nederland. Het gaat om gewoon legaal gebruik. Het huidige onderzoek wees uit dat er ecologische risico's zijn door de aanwezigheid van deze middelen in paardenmest. Onderzoek op de belendende percelen en in de omringende sloten wees niet op de aanwezigheid van schadelijke hoeveelheden in bodem, sediment of water. Desondanks kan men op de bedrijven het voorzorgsprincipe hanteren door al enkele maatregelen door te voeren.

Bij het gebruik van ontwormingsmiddelen moet men zich afvragen of routinematige behandelingen wel altijd nodig zijn. Als de dieren regelmatig van weide veranderen en dus niet lang in weides met uitwerpselen verblijven, neemt de infectiekans van parasieten af. In feite zou men alleen moeten behandelen wanneer daadwerkelijk is aangetoond dat een dier geïnfecteerd is. Een aantal van de onderzochte paardenhouders passen dit principe al in de praktijk toe. Het bepalen van besmetting kost echter meer geld dan preventief te ontwormen.

Als er toch ontwormd wordt, kan het ontstaan van ongewenste risico's worden vermeden door de paarden na toediening van de middelen enkele dagen op stal te houden en de stalresten waar deze middelen in zitten apart te verzamelen en verwerken op een manier waarmee verspreiding van de middelen naar het milieu en richting voedselketen (bijvoorbeeld champignoncultuur) wordt vermeden. Middelen als ivermectine worden nagenoeg volledig en binnen enkele dagen met de mest uitgescheiden, zelfs als het middel via injectie wordt toegediend. Uit de wetenschappelijke literatuur blijkt dat een week na orale toediening van ivermectine het grootste deel (>90%) door paarden is uitgescheiden (Pérez *et al.*, 2001; Gokbulut *et al.*, 2005), maar om de precieze wachttijd af te leiden tot de excretie op een veilig niveau ligt zou nog onderzoek kunnen worden gedaan. Daarnaast kan men er voor kiezen om in ecologisch gevoelige jaargetijden zoals het voorjaar niet of minder te ontwormen.

Bagger op de kant – Zoals eerder in Hoofdstuk 4 is uitgelegd, bleek uit de inventarisatie naar locaties bij verschillende waterschappen dat de bagger uit wateren die sterk worden beïnvloed door RWZI effluent niet of nauwelijks lokaal nog op de kant wordt gezet. Zuiverings-slib van industriële afvalwaterzuiveringsinstallaties mag als meststof worden gebruikt maar moet dan wel voldoen aan strenge normen voor klassieke verontreinigingen zoals zware metalen en PAK's. Zuiverings-slib van RWZI's mag in het geheel niet als meststof worden gebruikt, zelfs al voldoet dit slib aan de eisen qua klassieke verontreinigingen.

Indien er toch slib van overstortlocaties of uit een slibvang in verdachte wateren (zie Groesbeek) op het land wordt gebracht, verdient het de aanbeveling het slib, naast de gewone prioritaire verontreinigingen, ook te laten analyseren op nieuwe verontreinigingen. Mogelijk zijn de bestaande criteria uit te breiden met geneesmiddelen en hormonen. Het is daarvoor echter eerst noodzakelijk wetenschappelijk onderbouwde risicodrempels af te leiden voor het slib, net zo als dat in het verleden is gebeurd voor polycyclische aromatische koolwaterstoffen, gechlloreerde koolwaterstoffen en zware metalen.

Infiltrerend afvalwater – Riolverstorten zoals die in Doorn waarbij afvalwater terecht komt in een vijver komen niet veel voor. Er zijn echter wel veel overstorten die lozen op kleine wateren. Bij het onderzoek van deze locatie kon geen verspreiding richting grondwater worden gemeten, maar werd wel een potentieel ecologisch risico vastgesteld in het slib en oppervlaktewater van de vijver. Echter de situatie in Doorn is nog niet zodanig dat er discussie is of er in het kader van het zogenaamde 'waterkwaliteitsspoor' maatregelen moeten worden genomen. Bij riooloverstorten waar wel deze discussie speelt, zou herhaling van dit onderzoek duidelijk kunnen maken of de situatie van de waterkwaliteit inderdaad een reden is om kostbare verbeteringen in het rioolstelsel ter beperking van overstorten aan te brengen.

Lekkende riolen beïnvloeden de grondwaterkwaliteit vooral in gebieden waar riolen boven de grondwaterspiegel liggen. Dit geldt voor gebieden als de Utrechtse Heuvelrug en andere glaciële stuwwallen, de duinen en hoger gelegen gebieden in Zuid Limburg. De gevonden concentraties nieuwe verontreinigingen in het grondwater zijn niet zo hoog, maar het aantreffen van deze stoffen in het grondwater toont aan dat afvalwater infiltreert in de bodem. Waar dit grondwater wordt gewonnen om drinkwater van te maken kunnen op termijn problemen ontstaan. Het is voor de stedelijke grondwaterkwaliteit daarom van belang dat de kwaliteit van riolen en het grondwater goed in de gaten wordt gehouden.

Infiltratie van (nieuwe) verontreinigingen in grondwater kan worden vermeden door overstorten te saneren, door de bergingscapaciteit te vergroten, buffers aan te leggen en riolen te verbeteren. Veel gemeenten en waterschappen zijn al actief bezig met het verbeteren van waterberging en het rioolstelsel.

Toepassing van mineralenconcentraat als kunstmestvervanger – In mestverwerkende installaties wordt drijfmest gescheiden in drie fracties: een dikke fractie, een mineralenconcentraat en een permeaat. Het onderzoek heeft aangetoond dat de dikke fractie en het mineralenconcentraat significante concentraties antibiotica en hormonaal actieve stoffen bevatten. Ook onbewerkte mest bevat dit.

De toepassing van mineralenconcentraat op een akker leidde in dit onderzoek niet tot noemenswaardige concentraties antibiotica en hormonen in de bodem en het grondwater. Ook zijn er in drainage water en sediment van de drain weinig van deze stoffen gevonden. Deze bevindingen duiden op een laag risico van de aanwezige stoffen bij bemesting. Voordat er echter geconcludeerd wordt dat er geen risico's zijn, zou het verstandig zijn hiernaar nog nader onderzoek uit te voeren omdat deze voorlopige conclusie is gebaseerd op slechts één, ongerepliceerd experiment dat tijdens een zeer droge zomer met weinig neerslag is uitgevoerd. Deze aanbeveling geldt ook voor dierlijke mest en mestverwerkingsproducten in zijn algemeenheid.

In de effluënten (permeaten) van mestverwerkende installaties werden antibiotica aangetroffen en in sommige gevallen ook vrouwelijke hormonen of hormonale activiteit. Effluënten van mestverwerkende installaties die te hoge concentraties nieuwe verontreinigingen bevatten, zoals het effluent van installatie D* in dit onderzoek, zouden gezuiverd moeten worden voorafgaand aan lozing op het oppervlaktewater. Dit onderzoek toonde echter aan dat er grote verschillen zijn in kwaliteit tussen de permeaten van de verschillende installaties. De installaties hanteren allemaal het proces van omgekeerde osmose. Dat toch het resultaat zo verschilt kan liggen aan verschillen in de verwerkingslijn, verschillen in de osmose installaties en/of in beheer en onderhoud van de installatie. Het probleem van een verontreinigd effluent kan via een verbetering van de bedrijfsvoering of gehanteerde technieken opgelost worden.

Uiteindelijk beslist het bevoegd gezag over de vergunningverlening voor effluentlozing. Er bestaan voor de genoemde verontreinigingen echter geen criteria en het verdient aanbeveling deze te ontwikkelen.

8 Algemene conclusies & aanbevelingen

In het rapport zijn de resultaten van vier pilot studies beschreven waarin het vóórkomen en de mogelijke risico's van geneesmiddelen en hormonen zijn onderzocht. In het algemeen lijkt het voorkomen van de stoffen in de onderzochte bodems en het grondwater op basis van dit onderzoek mee te vallen.

Rond paardenhouderijen werden geen ontwormingsmiddelen aangetroffen en na het op de kant zetten van bagger uit een verontreinigde slibvang in een beek en het toepassen van mineralenconcentraat uit een mestverwerkende installatie (MVI) op een akker werden bijna geen stoffen terug gemeten terwijl het slib en het concentraat wel degelijk geneesmiddelen en hormonen bevatten. De bronnen van deze verontreinigingen vormen in sommige gevallen op zich zelf wel een potentieel risico. Zo is de mest van met ontwormingsmiddelen behandelde paarden giftig voor mestinsecten en is het slib dat nog in de slibvang ligt voldoende verontreinigd om een risico voor het lokale waterleven te vormen.

Ook een overstort van rioolwater op een vijver vormt mogelijk een risico voor waterorganismen door het voorkomen van humane geneesmiddelen en hormonen. De betreffende stoffen zijn echter niet in het grondwater naast de vijver terug gevonden. Op een andere locatie werden in het grondwater in de buurt van een lekkend riool, waarop een ziekenhuis loosde, een röntgencontrastmiddel en een antibioticum gevonden. Deze concentraties zijn zo laag dat er geen risico's zijn voor de bereiding van drinkwater, maar de vondst is een duidelijk signaal dat waakzaamheid op dit soort plekken vereist is. In de bodem naast het riool werd geen van de onderzochte verontreinigingen aangetroffen.

Varkensdrijfmest bleek allerlei soorten antibiotica en hormonen te bevatten. Na verwerking in MVI's komen deze stoffen grotendeels in de dikke fractie en in het mineralenconcentraat terecht. Het geproduceerde permeaat of effluent bevatte veel minder stoffen en hormonale activiteit, maar varieerde tussen de verschillende installaties.

Het project gebruikte een 'hot spot' benadering. Er werd onderzoek gedaan op locaties waar de hoogste risico's verwacht werden. In enkele gevallen is aangetoond dat veronderstelde hot spots geen hot spots waren, omdat de gevonden concentraties laag waren en potentiële effecten onwaarschijnlijk: de omgeving rond paardenhouderijen, de effluentlozingen van MVI's (vooral na optimalisatie van de installaties). In andere gevallen bleek er wel sprake van een hot spot te zijn: slib in een slibvang, overstort in vijver, grondwaterput bij lekkend riool. Voor de twee 'hot spots' waar een experimentele benadering werd gebruikt wordt verder onderzoek aanbevolen, mede omdat de droge omstandigheden tijdens de experimenten uitzonderlijk waren: op de kant zetten van bagger uit genoemde verontreinigde slibvang en bemesting op akkers.

Er is op dit moment bijna geen wettelijk kader om met (dier)geneesmiddelen en hormonen in het milieu om te gaan en al helemaal niet voor andere milieumatrices dan water zoals mest, bodem en slib/sediment. Het verdient aanbeveling om voor de belangrijkste onderzochte stoffen op basis van wetenschappelijk vastgestelde effectdrempels normen en toetsingskaders te gaan ontwikkelen. Indien deze officiële weg lang duurt kunnen voorlopige *ad hoc* waarden worden afgeleid. RIVM heeft inmiddels voor metoprolol, metformine en carbamazepine ecologische kwaliteitsstandaarden afgeleid (Moermond, 2014). In veel van de hier onderzochte gevallen is echter met simpele maatregelen ook al winst te halen: paarden op stal houden na ontwormingskuur, procesvoering MVI optimaliseren, geen bagger van risicolocaties op de kant zetten, oude overstortlocaties saneren en lekkende rioolstelsels aanpakken.

Misschien wel de belangrijkste conclusie van het onderzoek is dat monitoren in het milieu belangrijke kennis oplevert: meten is weten. De in de Inleiding beschreven vicieuze cirkel is met dit beperkte onderzoek weliswaar niet geheel doorbroken, maar hier is wel een aanvang mee gemaakt. Het

verdient dan ook de aanbeveling om diverse stakeholders te informeren en met dergelijk onderzoek door te gaan, speciaal in het terrestrische milieu.

9 Literatuur

- Åsbakk, K., H.R. Bendiksen & A. Oksanen. 1999. Ivermectin in reindeer Feces: Determination by HPLC. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 47: 999-1003.
- Bondt, N., L.F. Puister, L. Ge, H.B. van der Veen, R.H.M. Bergevoet, B.E. Douma, A.L.J. van Vliet & K.W. Wehling. 2012. Trends in veterinary antibiotic use in the Netherlands 2005-2011. LEI, Wageningen UR, Den Haag, 16 p.
- Boonstra, H., E.P. Reichman & P.J. van den Brink. 2011. Effects of the veterinary pharmaceutical ivermectin in indoor aquatic microcosms. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology* 60: 77-89.
- Brand, W., C.M. de Jongh, S.C. van der Linden, W. Mennes, L.M. Puijker, C.J. van Leeuwen, A.P. van Wezel, M. Schriks & M.B. Heringa. 2013. Trigger values for investigation of hormonal activity in drinking water and its sources using CALUX bioassays. *Environmental International* 55: 109-118.
- Camacho-Muñoz, D., J. Martín, J.L. Santos, I. Aparicio, & E. Alonso. 2013. Distribution and risk assessment of pharmaceutical compounds in river sediments from Doñana Park (Spain). *Water Air and Soil Pollution* 224: 1-15.
- CIW, 2000. Integrale aanpak van risico's van onvoorziene lozingen. Commissie Integraal Waterbeheer, Den Haag, 83 p.
- Derksen, A. & T. ter Laak. 2013. Humane geneesmiddelen in de waterketen. STOWA rapportnr. 2013-06, Stichting Toegepast Onderzoek Waterbeheer (STOWA), Amersfoort / KWR projectnr. 2013-006, KWR Watercycle Research Institute, Nieuwegein.
- European Commission, 2012. Proposal for a directive of the European Parliament and of the Council, amending Directives 2000/60/EC and 2008/105/EC as regards priority substances in the field of water policy. COM(2011) 876 final. EU, Brussel.
- Garric, J., B. Vollat, K. Duis, A. Péry, T. Junker, M. Ramil, G. Fink & T.A. Ternes. 2007. Effects of the parasiticide ivermectin on the cladoceran *Daphnia magna* and the green alga *Pseudokirchneriella subcapitata*. *Chemosphere* 69: 903-910.
- Gokbulut C., M. Boyacioglu & U. Karademir. 2005. Plasma pharmacokinetics and faecal excretion of ivermectin (Eqvalan® paste) and doramectin (Dectomax®, 1%) following oral administration in donkeys. *Research in Veterinary Science* 79: 233-238.
- Harmsen, J., R.P.J.J. Rietra, J.E. Groenenberg, J. Lahr, A. van den Toorn & A.J. Zweers. 2012. Verspreiden van bagger op het land in klei- en veengebieden. Rapport nr. 2282, Alterra, Wageningen UR, 150 p.
- Hoeksma, P., F.E. de Buisonjé, P.A.I. Ehlert & J.H. Horrevoets. 2011, Mineralenconcentraten uit dierlijke mest. Monitoring in het kader van de pilot mineralenconcentraten. Rapport nr. 481, Livestock Research, Wageningen UR, Wageningen, 73 p.
- Hoeksma, P. & F.E. de Buisonjé. 2012, Mineralenconcentraten uit dierlijke mest. Monitoring 2011. Rapport nr. 626, Livestock Research, Wageningen UR, Wageningen, 23 p.
- Jobling, S., R.W. Burn, K. Thorpe, R. Williams & C. Tyler. 2009. Statistical modeling suggests that antiandrogens in effluents from wastewater treatment works contribute to widespread sexual disruption in fish living in English rivers. *Environmental Health Perspectives* 117: 797-802.
- Lahr, J. 2007a. Nieuwe verontreinigingen in de bodem. Een verkennende literatuurstudie naar de mogelijke risico's van hormoonverstoorders en diergeneesmiddelen. Rapport nr. 1619, Alterra, Wageningen.
- Lahr, J. (red.). 2007b. LNV-workshop Nieuwe Verontreinigingen in de Bodem. Verslag van de workshop op 21 november 2007. Alterra, Wageningen.
- Lahr, J., R. van Kats & S. Crum. 2007c. Ontwormingsmiddelen in de natuur. Vakblad Natuur Bos Landschap, februari 2007: 22-23.
- Lahr, J., W.J. Dimmers, R. Schilt, P. Boshuis, H. Schmitt & J. van Schijndel. 2010. Natural hormones in soil and ground water after the injection of pig slurry into the soil of arable fields. In: SETAC Europe 20th annual meeting, Sevilla, Spain, 23 - 27 May, 2010.

-
- Lahr, J., R. van Kats, A. van der Hout, D. Lammertsma, B. van der Werf, H. Zweers, & A. Siepel. 2011. Ecologische effecten van het ontwormingsmiddel ivermectine. *Vakblad Natuur Bos Landschap*, december 2011: 28-31.
- Lamoree, M.H., J.G.M. Derksen, S.C. van der Linden, C.A. Uijterlinde & P. de Voogt. 2010. Efficiency of removal of compounds with estrogenic activity during wastewater treatment: effects of various removal techniques. In: Fatta-Kassinos, D., K. Bester & K. Kümmerer (red.). *Xenobiotics in the urban water cycle; mass flows, environmental process, mitigation and treatment strategies*. Environmental Pollution, Vol. 16. Chapter 15, p. 261- 282.
- Lesschen, J.P., I. Staritsky & G.L. Velthof. 2011. Verkenning grootschalige toepassing van mineralenconcentraten in Nederland. Effecten op nutriëntenstromen en emissies. Rapport nr. 2247, Alterra, Wageningen UR, Wageningen, 61 p.
- Li, J., N. Li, M. Ma, & J.P. Giesy. 2008. In vitro profiling of the endocrine disrupting potency of organochlorine pesticides. *Toxicology Letters* 183: 65-71.
- Li, J., M. Ma & Z. Wang. 2010. In vitro profiling of endocrine disrupting effects of phenols. *Toxicol. In Vitro* 24: 201-207.
- Liebig, M., A.A. Fernandez, E. Blübaum-Gronau, A. Boxall, M. Brinke, G. Carbonell, P. Egeler, K. Fenner, C. Fernandez, G. Fink, J. Garric, B. Halling-Sørensen, T. Knacker, K.A. Krogh, A. Küster, D. Löffler, M.A. Porcel Cots, L. Pope, C. Prasse, J. Römbke, I. Rönnefahrt, M.K. Schneider, N. Schweitzer, J.V. Tarazona, T.A. Ternes, W. Traunspurger, A. Wehrhan & K. Duis. 2010. Environmental risk assessment of ivermectin - a case study. *Integrated Environmental Assessment and Management* 6(S1): 567-587 (Special Issue on Environmental Risk Assessment of Pharmaceuticals, ERAPharm).
- LNV. 2010. Reactie op TCB-advies nieuwe verontreinigingen in de bodem van het landelijk gebied. Brief aan de Tweede Kamer, NLP.2010/1260, 23 maart 2010. Ministerie van Landbouw, Natuur en Voedselkwaliteit, Den Haag.
- Lumaret, J.-P., F. Errouisi, K. Floate, J. Römbke & K. Wardhaugh, 2012. A review of the toxicity and non-target effects of macrocyclic lactones in terrestrial and aquatic environments. *Current Pharmaceutical Biotechnology* 13: 1004-1060.
- Meijer, G.A.L., Wagenaar, J A, de Bree, J, Kop, A, Spoelstra, J. 1998. Riolooverstorten vormen een bedreiging voor de productie en vruchtbaarheid van melkvee. 1998 [cited 2014 July 2014]; 2]. Available from: <http://www.gerwinmeijer.nl/publications/nvo98.pdf>.
- Mevius, D.J., Wit, B., van Pelt, W., 2007. Maran 2007 - Monitoring of antimicrobial resistance and antibiotic usage in animals in the Netherlands. Central veterinary Institute of Wageningen UR, Lelystad, p. 103.
- Moermond, C.T.A., 2014. Environmental risk limits for pharmaceuticals - Derivation of WFD water quality standards for carbamazepine, metoprolol, metformin and amidotrizoic acid. RIVM, Dutch national Institute of Public Health and the Environment, Bilthoven, the Netherlands, p. 56.
- Monteiro, S. C. & A. B. A. Boxall. 2010. Occurrence and fate of human pharmaceuticals in the environment. *Rev Environmental Contamination Toxicology* 202: 53-154.
- NEN, 1991. Soil - Sampling of groundwater for the determination of metals, inorganic compounds, moderate volatile organic compounds and physico-chemical properties. Dutch Institute for Normalisation the Netherlands, p. 4.
- Oekotoxzentrum, 2012. Vorschläge für akute und chronische Qualitätskriterien für ausgewählte schweizrelevante Substanzen. Oekotoxzentrum, EAWAG, Dübendorf, Zwitserland. <http://www.oekotoxzentrum.ch/expertenservice/qualitaetskriterien/vorschlaege/index>
- Oosterom, G.E. & H.J. Gastkemper, zonder datum. Doorboringen van riolen door kabels en leidingen. Omvang, aard en oplossingen. Stichting RIONED, Ede.
- Orton F, Rosivatz E, Scholze M, Kortenkamp A. (2011). Widely used pesticides with previously unknown endocrine activity revealed as in vitro antiandrogens. *Environ Health Perspect.* 2011 Jun; 119(6): 794-800.
- Pan, B., Ning, P., Xing, B., 2009. Part V - Sorption of pharmaceuticals and personal care products. *Environmental Science and Pollution Research* 16, 106-116.
- Pérez R, Cabezas I, Sutra JF, Galtier P, Alvinerie M (2001) Faecal excretion profile of moxidectin and ivermectin after oral administration in horses. *Vet J* 161:85-92.
- PBL. 2009a. Milieubalans 2009. Planbureau voor de Leefomgeving, Bilthoven, 248 pp.
- PBL. 2009b. Natuurbalans 2009. Planbureau voor de Leefomgeving, Bilthoven, 212 pp.

-
- Pieters, B., 2011. Verbetering schatting effluentvrachten RWZI's. Grontmij, Amsterdam, the Netherlands, p. 102
- Sassman, S.A., Laa, L.S., 2005. Sorption of three tetracyclins by several soils: assessing the role of pH and cation exchange. *Environmental Science and Technology* 39, 7452-7459.
- Puijker, L. (2007). Oestrogene activiteit in oppervlaktewater van de Rijn. Nieuwegein, The Netherlands, RIWA
- Rabolle, M., Spliid, N.H., 2000. Sorption and mobility of metronidazole, olaquinox, oxytetracycline and tylosin in soil. *Chemosphere* 40, 715-722.
- Rioned, 2013. Riolerings in beeld. Benchmark rioleringszorg 2013. Stichting Rioned, Ede.
- RIWA (2009). Temporal variation in multiple hormonal activities of surface waters located in the Dutch part of the Rhine basin. RIWA report.
- Roy P, Salminen H, Koskimies P, Simola J, Smeds A, Saukko P, Huhtaniemi IT, 2004. Screening of some anti-androgenic endocrine disruptors using a recombinant cell-based in vitro bioassay. *J Steroid Biochem Mol Biol.* 2004 Feb; 88(2): 157-66.
- Rutsch, M., Rieckermann, J., Cullmann, J., Ellis, J.B., Vollertsen, J., Krebs, P., 2008. Towards a better understanding of sewer exfiltration. *Water Research* 42, 2385-2394.
- Sassman, S.A., Laa, L.S., 2005. Sorption of three tetracyclins by several soils: assessing the role of pH and cation exchange. *Environmental Science and Technology* 39, 7452-7459.
- Scheurer, M., Sacher, F., Brauch, H.-J., 2009. Occurrence of the antidiabetic drug metformin in sewage and surface waters in Germany. *Journal of Environmental Monitoring* 11, 1608-1613.
- Schilt, R., van de Lagemaat, D., 2009. Rapportage deelresultaten project Antibiotica in de bodem. Deelrapport D: Antibiotica in de bodem: Onderzoek van grondwater, bodem en mest. Projectnummer PP8348, SKB, Gouda.
- Schreurs RH, Sonneveld E, Jansen JH, Seinen W, van der Burg B. (2005). Interaction of polycyclic musks and UV filters with the estrogen receptor (ER), androgen receptor (AR), and progesterone receptor (PR) in reporter gene bioassays. *Toxicol Sci.* 2005 Feb; 83(2): 264-72.
- Schriks, M., M.B. Heringa, V.D. Kooi, P. de Voogt, P. & A.P. van Wezel. 2010. Toxicological relevance of emerging contaminants for drinking water quality. *Water Research* 44: 461-476.
- Schriks, M., L. Puijker, Ter Laak, T. L. (2012). KRW-spagaat: aanwezigheid van (organische) microverontreinigingen in en rond de Bethunepolder. Nieuwegein, the Netherlands, KWR Watercycle Research Institute: 43. Rijn: 15.
- Schwarzenbach, R.P., Gschwend, P.M., Imboden, D.M., 2003. *Environmental Organic Chemistry*. John Wiley & Sons, Hoboken.
- Sebire, M., Y. Allen, P. Bersuder, I. Katsiadaki (2008). The model anti-androgen flutamide suppresses the expression of typical male stickleback reproductive behaviour. *Aquatic Toxicology* 90: 37-47.
- Sijm, D.T.H.M., Kraaij, R., Belfroid, A.C., 2000. Bioavailability in soil or sediment: exposure of different organisms and approaches to study it. *Environmental pollution* 108, 113-119.
- Smit, C.E., and S. Wuijts. 2012. Bijlage 3 bij RIVM-rapport 601714022. Specifieke verontreinigende en drinkwater relevante stoffen onder de Kaderrichtlijn water. Selectie van potentieel relevante stoffen voor Nederland. RIVM rapport 601714022.
- Stalter D, Magdeburg A, Wagner M, Oehlmann J. (2011). Ozonation and activated carbon treatment of sewage effluents: removal of endocrine activity and cytotoxicity. *Water Res.* 2011 Jan; 45(3): 1015-24.
- Streck, G. 2009. Chemical and biological analysis of estrogenic, progestagenic and androgenic steroids in the environment *TrAC Trends in Analytical Chemistry* Volume 28, Issue 6, June 2009, Pages 635-652
- Swan SH. 2008. Environmental phthalate exposure in relation to reproductive outcomes and other health endpoints in humans. *Environmental Research* Volume 108, Issue 2, October 2008, Pages 177-184
- Tavazzi, S., G. Locoro, S. Comero, E. Sobiecka, R. Loos, O. Gans, M. Ghiani, G. Umlauf, G. Suurkuusk, B. Paracchini, C. Cristache, I. Fissiaux, A. Alonso Riuz and B.M. Gawlik 2012. Occurrence and levels of selected compounds in European Sewage Sludge Samples. Results of a Pan-European Screening Exercise (FATE SEES). European Commission Joint Research Centre. JRC scientific and policy reports. Report EUR 25598 EN.
- TCB. 2009. Advies nieuwe verontreinigingen in de bodem van het landelijk gebied. Brief aan de Minister van Landbouw, Natuur en Voedselkwaliteit, TCB A054, 23 december 2009. Technische Commissie Bodem, Den Haag, 21 p.

-
- ter Laak, T.L., W.A. Gebbink, & J. Tolls. 2006. Estimation of soil sorption coefficients of veterinary pharmaceuticals from soil properties. *Environmental Toxicology and Chemistry* 25: 933-941.
- ter Laak, T.L., M. van der Aa, P. Stoks, C. Houtman & A.P. van Wezel. 2010. Relating environmental concentrations of pharmaceuticals to consumption: a mass balance approach for the river Rhine. *Environment International* 36: 403-409.
- ter Laak, T.L., B. Hofs, C.M. de Jongh, B. Wols, & R. Hofman-Caris. 2011. Selecting relevant pharmaceuticals for monitoring, risk assessment and removal studies, version 1. Rapport, KWR Watercycle Research Institute, Nieuwegein, 33 p.
- ter Laak, T.L., H. Tolkamp & J. Hofman. 2013. Geneesmiddelen in de Watercyclus in Limburg. Fase 1: voorkomen, herkomst en ernst van geneesmiddelen in het watersysteem. Rapport, KWR Watercycle Research Institute, Nieuwegein, 86 p.
- Thomas, K. V., K. Langford, K. Petersen, A. J. Smith & K. E. Tollefsen. 2009. Effect-directed identification of naphthenic acids as important in vitro xeno-estrogens and anti-androgens in North Sea offshore produced water discharges. *Environmental Science and Technology* 43: 8066–8071.
- Thiele-Bruhn, S., T. Seibicke, H.-R. Schulten & P. Leinweber. 2004. Sorption of sulfonamide pharmaceutical antibiotics on whole soils and particle size fractions. *Journal of Environmental Quality* 33: 1331-1342.
- van der Aa, N.G.F.M., P.L.A. van Vlaardingen, L.C. van Ieeuwen & M. Post. 2011. Assessment of potential risks of 11 pharmaceuticals for the environment. Using environmental information from public databases. Rapport nr. 601711003, RIVM, Bilthoven, 30 p.
- van der Kooij, D., J. van Genderen, M.B. Heringa, A.C. Hogenboom, C. de Hoogh, M.N. Mons, L. Puijker, N. Slaats, J. Vreeburg & A.P. van Wezel. 2010. Drinkwaterkwaliteit Q21. Rapport, KWR Watercycle Research Institute, Nieuwegein, 155 p.
- van der Windt, N.P., R.J.W. Olde Loohuis & H.J. Agricola. 2007. De paardenhouderij in beeld: een verkenning naar de landschappelijke verschijningsvorm van de paardenhouderij. Rapport 1444, Alterra, Wageningen UR, Wageningen.
- van Schijndel, J., J. Oosterwegel, R. Liefers, H. Schmitt, R. Schilt & J. Lahr. 2009. Antibiotica in de bodem: een pilot study. Rapport nr. PP8348, Stichting Kennisontwikkeling en kennisoverdracht Bodem (SKB), Gouda, 25 p.
- Velthof, G.L. 2011. Synthese van het onderzoek in het kader van de Pilot Mineralenconcentraten. Rapport nr. 2211, Alterra, Wageningen UR, Wageningen, 74 p.
- Vergouwen, A.A., B.J. Pieters & S. Kools. 2011. Inventarisatie van emissie van geneesmiddelen uit zorginstellingen. ZORG, Deel C. Rapport, STOWA, Amersfoort.
- Vethaak A.D., J. Lahr, S.M.Schrap, A.C. Belfroid, G.B.J. Rijs, A. Gerritsen, J. de Boer, A.S. Bulder, G.C.M. Grinwis, R.V. Kuiper, J. Legler, T.A.J. Murk, W. Peijnenburg, H.J.M. Verhaar & P. de Voogt. 2005. An integrated assessment of estrogenic contamination and biological effects in the aquatic environment in The Netherlands. *Chemosphere* 59: 511-524.
- Williams, M., P.L. Ong, D.B. Williams & R.S. Kookana. 2009. Estimating the sorption of pharmaceuticals based on their pharmacological distribution. *Environmental Toxicology and Chemistry* 28: 2572-2579.
- Wirtz, F. 2009. Danube, Meuse and Rhine MEMORANDUM 2008. *Environmental Science and Pollution Research International* 16 (Suppl 1): S112-115.
- Wuijts, S. 2010. Evaluatie en actualisatie protocol gebiedsdossiers. Rapport nr. 609716002, RIVM, Bilthoven.
- Yu, Z., B. Xiao, W. Huang & P. Peng. 2004. Sorption of steroid estrogens to soils and sediments. *Environmental Toxicology and Chemistry* 23: 531-539.
- Zhao J.L., G.G. Ying, B. Yang, S. Liu, L.J. Zhou, Z.F. Chen & H.J. Lai. 2011. Screening of multiple hormonal activities in surface water and sediment from the Pearl River system, South China, using effect-directed in vitro bioassays. *Environmental Toxicology and Chemistry* 30:2208-2215.

Bijlage 1 Monstermethoden

Voor alle matrices en monstermethoden geldt:

- Vervoer monsters vanuit veld in koelkast of koelbox met ijs.
- Bij opslag langer dan 2 dagen van nog niet geëxtraheerde monsters deze in vriezer bewaren. Voor waterige monsters moeten flessen schuin gezet worden en half gevuld worden om glasbreuk te voorkomen.
- Extracten bewaren in vriezer.
- Van alle monsters wordt in ieder geval in tweevoud gemonsterd, zodat bij verlies van monster of extract een reserve monster aanwezig is.

Paardenmest:

Composietbemonstering, samenvoegen van 10 submonsters enkele ca. 100g van verschillende plekken, homogeen verspreid over een locatie (paardenbak, mesthoop) in een bak samenvoegen. Homogeniseren en 1 mengmonster in een glazen pot (minimaal 100 mL) deponeren. Extractie van homogeen (sub)monster van 5g voor ivermectine analyse.

Sediment/ slib/bagger:

Bemonstering slib of bagger in watergang in de Pilot 1 en 4 is met een van Veen happer of Box corer gedaan. Minimaal 500 mL slib van 20-30 cm diep is bemonsterd. In de slibvang en bij de overstort (Pilot 3) en slibvang (Pilot 2) is oppervlakkig (0-10 cm) slib bemonsterd door met schep op lange stok minimaal 5 deelmonsters te nemen en deze te mengen. Mest MVI & mineralenconcentraat

Bodemmonster:

Composietbemonstering, 40 submonsters (Pilot 1 en 4) van ca. 100g uit een grid van 10 x 4 monsterpunten met een onderlinge afstand van 5m in een bak samenvoegen. Homogeniseren en 1 mengmonster in een glazen pot deponeren (minimaal 500 mL).
Bodemmonster grasland 0-15 cm diep, akkerland 0-25 cm diep met gutsboor.
Bodemmonster infiltrerend afvalwater: proberen naast/onder rioolbuis monstere (2 m diep) met gutsboor (composietbemonstering van twee keer 5 deelmonsters met een afstand van ongeveer 2 meter).

Ondiep grondwater:

Met behulp van een boring en een elektrische pomp wordt grondwater bemonsterd. Een maal voorspoelen met water uit het veld, monstervolume minimaal 500 mL in glazen fles.

Diep grondwater:

Grondwater bemonstering in reeds aanwezige actieve pompputten (Vitens) uitvoeren volgens NEN norm (NEN, 1991), monstervolume 500 mL.

Oppervlaktewater:

Bemonstering in midden watergang of zo ver mogelijk van de kant door fles onder te dompelen. Niet ondiep water bemonstere, maar proberen wat dieper (0,5 m) te bemonstere i.v.m. drijvend materiaal.
Water (500 mL) bewaren in glazen fles.

Bijlage 2 Biologische analyses (CALUX)

CALUX assays zijn een serie van screeningsassays waarmee de activiteit van een specifieke groep hormonen of hormoonverstorende stoffen kan worden gemeten. CALUX assays maken gebruik van een aangepaste cellijn, in dit geval een humane borstkankercellijn, waar een receptor is ingebouwd die gevoelig is voor een bepaalde groep van hormonen. Als deze hormonen, of stoffen met een vergelijkbare werking, binden aan deze receptor vindt een serie van reacties plaats, met als uiteindelijk effect het uitzenden van licht. Hoe meer licht wordt uitgezonden, hoe meer hormonale activiteit er is.

Er bestaan verschillende cellijnen met elk hun eigen receptor, die selectief reageert op een bepaald type hormonen of hormoonverstorende stoffen. De geselecteerde receptoren voor dit onderzoek zijn: de oestrogene receptor (vervrouwelijking, ER-CALUX), de androgene receptor (waarbij zowel de vermannelijking als de anti-vermannelijking wordt gemeten, AR-CALUX en anti AR-CALUX), de progestagene receptor (zwangerschapshormoon, PR-CALUX) en de glucocorticoïde receptor (stresshormoon, GR-CALUX). Het effect wordt uitgedrukt in equivalenten van een referentiestof, bijvoorbeeld in equivalenten van het bekende vrouwelijke hormoon oestradiol bij de ER-CALUX. Voor de monsters van het scenario mestverwerking (mest, mineralenconcentraat, bodem, grondwater oppervlaktewater) is getoetst of een de-conjugatie stap nodig was (een enzymatische behandeling om stoffen die om de uitscheiding uit organismen te bevorderen gebonden zijn aan een goed oplosbaar molecuul weer vrij (dus niet gebonden) in oplossing te krijgen. Dit bleek echter geen verschil op te leveren, er is daarom besloten geen deconjugatiestap uit te voeren (persoonlijke communicatie, Emiel Felzel en Harrie Besselink, BDS).

Benodigd volume:

250 mL water, mineralenconcentraat evt 10-100 mL,

ca. 50 g bodem/slib/bagger, voor mest kan eventueel minder materiaal worden gebruikt.

Uitvoerder:

Bio Detection Systems (BDS)

Bijlage 3 Chemische analyses

Ontwormingsmiddelen

Ivermectine analyses worden uitgevoerd volgens de methode van Åsbakk *et al.* (1999) voor rendier faeces. Ca. 5 a 10 gram Grond/mest monsters werden overnacht geextraheerd met 70 ml milli-Q water en 35 ml methanol. Een deelmonster werd opgeschoond (clean-up) over een kolom met 1 gram C-18 materiaal. Na elutie en concentrering van het monster werden de monsters gederivatiseerd met N-methylimidazol en trifluorazijnzuur. Het uiteindelijke extract werd geanalyseerd m.b.v. HPLC gevolgd door fluorescentie detectie (365nm/470nm). Kwantificering werd gedaan op basis van externe standaard monsters.

Monstervolume:

500 mL water (in principe waarschijnlijk minder, maar volume bepaalt stabiliteit van monster),
ca. 50 g mest/bodem.

Uitvoerder:

Alterra, Wageningen UR

Humane geneesmiddelen

Dit pakket van meest humane geneesmiddelen is geselecteerd op basis van consumptie, geschatte emissies, de therapeutische toepassing en de fysisch chemische eigenschappen (ter Laak *et al.*, 2011). Op deze manier worden de relevante geneesmiddelen van een breed scala therapeutische toepassingen en chemische eigenschappen onderzocht. Het pakket omvat 48 geneesmiddelen en 19 metabolieten. De methode bevat veel polaire geneesmiddelen die voor de vaste fase mogelijk minder relevant zijn. De methode berust op directe injectie van water. De meeste detectiegrenzen in water zijn 0,01 µg/L. De stoffen in het pakket staan in Bijlage 4.

Monstervolume:

100 mL water (in principe veel minder, maar volume bepaalt stabiliteit van monster),
ca. 20 g bodem/slib/bagger.

Uitvoerder:

KWR Watercycle Research Institute

Extractie bodem/slib/bagger (aceton/methanol/TBME): RIKILT en verzenden naar KWR

Antibiotica

De meest relevante veterinaire antibiotica worden gemeten in een breed pakket van ca. 30 antibiotica met tetracyclinen, sulfonamiden en quinolonen (gebaseerd op Schilt & van de Lagemaat, 2009). De beoogde stoffen in het pakket staan in Bijlage 4.

Monstervolume:

100 mL water,
10 g gram bodem/slib/bagger/mest.

Uitvoerder:

RIKILT (Wageningen UR)

Hormonen

In aansluiting op de 4 geselecteerde CALUX assays worden relevante vertegenwoordigers van deze stofgroepen gemeten in een analysemethode voor steroïden (oestrogene, androgene en progestagene hormonen). De glucocorticoiden zijn niet opgenomen in dit pakket, maar de meest relevante synthetische glucocorticoiden kunnen worden gemeten met het humane geneesmiddelenpakket. De beoogde stoffen in het pakket staan in Bijlage 4.

Monstervolume:

100 mL,

10 gram bodem/slib/bagger/mest.

Uitvoerder:

RIKILT (Wageningen UR)

Bijlage 4 Analysepakketten

Humane geneesmiddelen (uit Ter Laak et al., 2011)

Geneesmiddel of omzettingsproduct	CAS nr	Kwantificatielimiet (µg/L)	Kwantificatielimiet (µg/kg)	Recovery% ^f
10,11-trans-diol-carbamazepine ^c	35079-97-1	0.01	0.1	101.5
2-hydroxy carbamazepine ^c	68011-66-5	0.01	0.1	104
3-hydroxy carbamazepine ^c	68011-67-6	0.01	0.1	92.6
4-acetaminophen sulphate ^c	32113-41-0	0.025	0.25	66.2
4-formylaminoantipyrine ^c	1672-58-8	0.01	0.1	111.9
acetyl sulfadiazine ^d	127-74-2	0.01	0.1	93
α-hydroxy metoprolol ^c	56392-16-6	0.01	0.1	109.1
AMPH ^c	38604-70-5	0.01	0.1	92
erythromycine A ^c	23893-13-2	0.05	0.1	36.8
atenolol ^a	29122-68-7	0.01	0.1	96.5
bezafibrate ^a	41859-67-0	0.01	0.1	90.7
carbamazepine ^a	298-46-4	0.01	0.1	94.6
carbamazepine-10,11-epoxide ^c	36507-30-9	0.01	0.1	108.2
ciprofloxacin ^a	85721-33-1	0.50	5.0	99.1
clenbuterol ^a	37148-27-9	0.01	0.1	108.4
clindamycin	18323-44-9	0.01	0.1	76.1
clofibrac acid	882-09-7	0.01	0.1	80.9
cortisol ^a	50-23-7	0.025	0.25	92.9
cortisone ^e	53-06-5	0.025	0.25	99.2
cyclophosphamide ^a	50-18-0	0.01	0.1	52.8
diatrizoate (amidotrizoic acid) ^a	117-96-4	0.01	0.1	96.9
diclofenac ^a	15307-79-6	0.01	0.1	102
dimethylaminophenazone ^a	58-15-1	0.01	0.1	46.2
erythromycin A ^a	59319-72-1	0.025	0.25	89.9
phenazone ^a	60-80-0	0.01	0.1	105.9
fluoxetine ^a	59333-67-4	0.01	0.1	97.9
furosemide ^a	54-31-9	0.01	0.1	72.7
gemfibrozil ^a	25812-30-0	0.01	0.1	105.4
guanyurea ^c	141-83-3	0.05	0.5	103.6
hydroxy ibuprofen ^c	51146-55-5	0.50	5.0	99.7
ifosfamide ^a	3778-73-2	0.01	0.1	110.6
ketoprofen ^a	22071-15-4	0.01	0.1	78.8
lincomycin ^a	859-18-7	0.01	0.1	134.8
metformin ^a	657-24-9	0.05	0.5	96.3
metoprolol ^a	37350-58-6	0.01	0.1	103.2
metronidazole ^a	443-48-1	0.01	0.1	73.5
N4-acetyl sulfamethoxazole ^{c,d}	21312-10-7	0.01	0.1	104.2
naproxen ^a	22204-53-1	0.01	0.1	256.7
norfluoxetine ^c	83891-03-6	0.50	5.0	108.4
o-desmethyl metoprolol ^c	62572-94-5	0.01	0.1	85.9
o-desmethyl naproxen ^c	(R) 123050-98-6 / (S) 52079-10-4	0.05	0.5	111.4
o-Desmethyl tramadol ^c	73986-53-5	0.01	0.1	81.1
oxcarbamazepine ^{a(c)}	28721-07-5	0.01	0.1	93.6
paracetamol ^a	103-90-2	0.01	0.1	203
paroxetine ^a	61869-08-7	0.05	0.5	65.7
penicillin V ^{a,c}	132-98-9	0.01	0.1	97.9
pentoxifylline ^a	6493-05-6	0.01	0.1	103.6
pindolol ^a	13523-86-9	0.01	0.1	111.1
prednisolone ^a	50-24-8	0.05	0.5	89.9
propranolol ^a	525-66-6	0.01	0.1	107
propyphenazon ^a	479-92-5	0.01	0.1	104
salbutamol ^a	18559-94-9	0.01	0.1	86.6
salicylic acid ^c	69-72-7	< 5.0	< 50.0	79.2
sotalol ^a	3930-20-9	0.01	0.1	105.9
sulfachloropyridazine ^b	80-32-0	0.01	0.1	91.6
sulfadiazine ^{a,b}	68-35-9	0.01	0.1	110.3
sulfamethoxazole ^{a(b)}	723-46-6	0.01	0.1	98.2
sulfaquinoxalin ^b	59-40-5	0.01	0.1	102.1
terbutaline ^a	23031-32-5	0.01	0.1	73.2
tramadol ^a	27203-92-5	0.01	0.1	115

Geneesmiddel of omzettingsproduct	CAS nr	Kwantificatielimiet (µg/L)	Kwantificatielimiet (µg/kg)	Recovery% ^f
venlafaxine ^a	93413-69-5	0.01	0.1	113.6

a humaan geneesmiddel

b (voornamelijk) diergeneesmiddel

c omzettingsproduct van human geneesmiddel

d omzettingsproduct van diergeneesmiddel

e natuurlijk hormoon

f recovery voor waterige matrices, recovery voor vast materiaal is onbekend

Antibiotica en hormonen

	Kwantificatielimiet (µg/L)	Kwantificatielimiet (µg/kg)
Tetracyclinen		
4-epi-Tetracycline	<100*	<100
Tetracycline	<5*	<1-10
4-epi-Oxytetracycline	<100*	<100
Oxytetracycline	<5*	<50
4-epi-Chloortetracycline	<100*	<100
Chloortetracycline	<5-10*	<100
6-epi-doxycycline	<100*	<100
Doxycycline	<5*	<50
Sulfonamiden		
Sulfapyridine	<1**	<1
Sulfadiazine	<1**	<1
Sulfamethoxazole	<2-10	<1-5
Sulfathiazole	<1-10**	<1
Dapson	<2-10**	<1
Sulfamerazine	<1-3**	<1
Sulfamoxole	<1-2**	<5-10
Sulfisoxazole	<1-2**	<5
Sulfamethizole	<1-3**	<1
Sulfadimidine	<1**	<1
Sulfamethoxypridazine	<1-5**	<1
Sulfamonomethoxine	<1-10**	<5-10
Sulfachloropyradizine	<1-10**	<10
Sulfaquinoxaline	<1-5**	<1
Sulfadoxine	<1-2**	<1
Sulfadimethoxine	<1-2**	<1
Sulfaphenazole	<2-5**	<50
Sulfaguanidine	<1-5**	<50
Sulfacetamide	<1-5**	<50
Quinolonen		
Flumequine	<5**	<10
Enrofloxacin	<1-100**	<1
Marbofloxacin	<2-100**	<1
Norfloxacin	<2-100**	<1
Ciprofloxacin	<2-100**	<10
Danofloxacin	<1-100**	<1-5
Sarafloxacin	<2-100**	<1-10
Difloxacin	<5-100**	<10
Oxolinezuur	<2-10**	<1-10
Nalidixinezuur	<2-10**	<1-10
Steroidhormonen		
17α-nortestosterone	<10	<0.2
17β-nortestosterone	<10	<0.2
Nor-4-androstenedione	<10	<0.2
17α-testosterone	<10	<0.2
17β-testosterone	<10	<0.2
Andros-4-ene-3,17-dione	<10	<0.2
5α-dihydrotestosterone	<10	<0.2
5β-dihydrotestosterone	<10	<0.2
17α-boldenone	<10	<0.2
17β-boldenone	<10	<0.2
Andros-1,4-diene-3,17-dione	<10	<0.2

	Kwantificatielimiet (µg/L)	Kwantificatielimie t (µg/kg)
17α-estradiol	<10	<0.2
17β-estradiol	<10	<0.05
Progesterone	<10	<0.1
Pregnanediol	<10	<0.2

* Bij enkele heranalyses <1000 ng/L

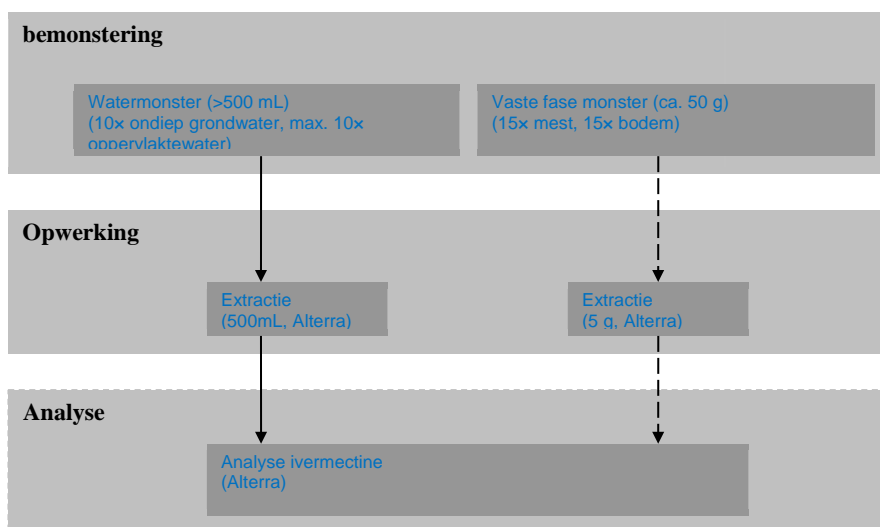
** Bij enkele heranalyses <500 ng/L

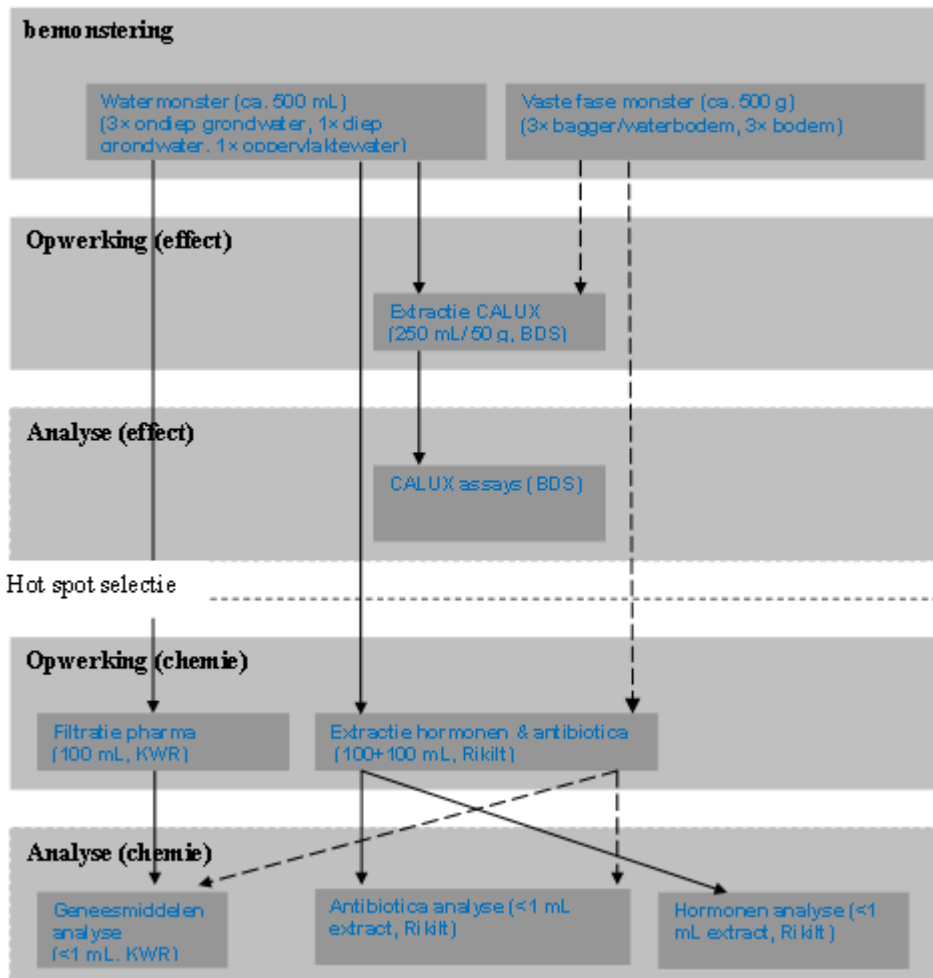
Bijlage 5 Afstemming gebruik monsters en extracten

Dezelfde monsters worden op verschillende parameters getoetst. Voor monsters van vaste materialen (bodem slib/bagger en mest) is gebruik gemaakt van monsters samengesteld uit submonsters. Het zogenoemde composietmonster is gesplitst voor de verschillende analyses. Dit verhoogt de representativiteit van het monster voor de mogelijk heterogene matrix en de vergelijkbaarheid tussen bijvoorbeeld chemische en biologische parameters. Voor antibiotica analyse en geneesmiddelen analyse zijn ook de extractie technieken gecombineerd. Voor andere analyses was dit niet mogelijk omdat de extractie technieken en gebruikte middelen zijn aangepast aan de analyse. Voor ivermectine worden enkel chemische analyses gedaan, dus daar is geen combinatie vereist.

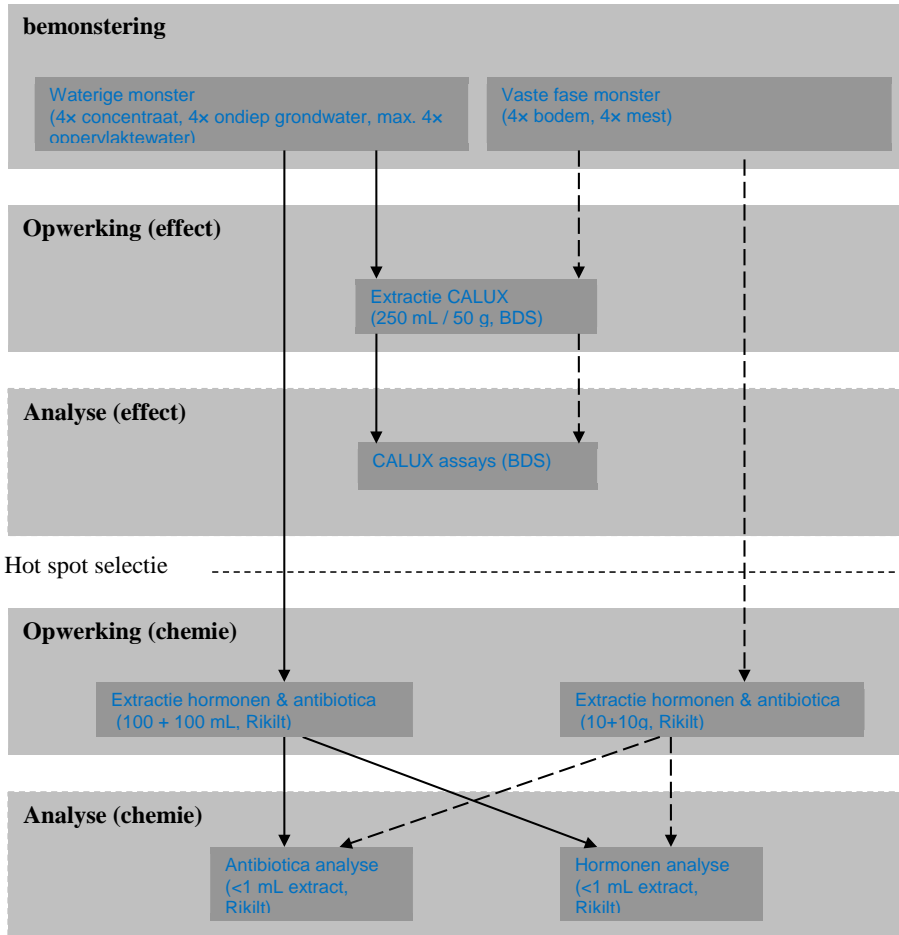
Hieronder is schematisch weergegeven hoe de bemonstering en bewerking is gecombineerd.

Pilot 1: Ontwormingsmiddelengebruik in de paardenhouderij





Pilot 4: Toepassing mineralenconcentraat MVI's.



Bijlage 6 Drempelwaarden

Biologische analyses

Gemeten zijn de oestrogene/vervrouwelijkende werking (ER-CALUX), androgene/vermannelijkende werking (AR-CALUX), de anti-androgene werking (anti-AR-CALUX), glycocorticosteroïde werking (GR-CALUX; stress hormonen) en de progestagene activiteit (PR-CALUX; zwangerschapshormoon). De mogelijkheden om de risico's van de CALUX-assays te duiden zijn beperkt: er zijn geen normen of grenswaarden om de milieurisico's van de gevonden activiteiten te kunnen beoordelen. Voor drinkwater en oppervlaktewater zijn er een beperkt aantal conceptnormen en grenswaarden, maar niet voor de andere matrices die zijn getest. De gemeten activiteiten kunnen wel vergeleken worden met eerder gemeten activiteiten. Echter vooral voor de vaste fase (mest, dikke fractie, bodem, sediment) is het aantal metingen (zeer) beperkt.

Om de resultaten toch te kunnen duiden zijn de volgende vergelijkingen gemaakt:

Vergelijking met activiteiten die in eerder Nederlands onderzoek zijn gemeten

Dit betreft met name metingen van de activiteiten in de ER-CALUX en GR-CALUX assay in RWZI-effluent en oppervlaktewater. Voor AR-CALUX en de PR-CALUX is een beperkt aantal metingen bekend, voor de anti-AR-CALUX geen. Resultaten van CALUX-metingen in bodem en mest zijn niet gevonden. Een overzicht van de gemeten activiteiten uit de literatuur wordt gegeven in Tabel B6-1.

Vergelijking met de conceptnorm voor 17 β -oestradiol uit de Kader Richtlijn Water

Dit is alleen mogelijk voor de ER-CALUX. De activiteit van deze assay wordt uitgedrukt als equivalenten van het natuurlijke vrouwelijke hormoon 17 β -oestradiol. Binnen de Kader Richtlijn Water is een conceptnorm afgeleid voor dit natuurlijke hormoon van 0,4 ng/L, gebaseerd op ecotoxicologische effecten. Deze KRW-norm geldt voor een stof, bij de ER-CALUX gaat het om de gezamenlijke werking van oestrogene stoffen uitgedrukt in equivalenten 17 β -oestradiol. Beiden kunnen dus niet direct met elkaar vergeleken worden. Echter, bij overschrijding van de KRW-norm in de ER-CALUX assay kunnen effecten op de ecologie, zoals vermannelijking van vrouwelijke vissen, niet uitgesloten worden.

Vergelijking met 'trigger values' voor activiteiten van CALUX-assays in (drink)water gebaseerd op effecten voor de mens

Bij de afleiding van deze triggervalue is onder andere rekening gehouden met de acceptabele dagelijkse inname, het gedrag van de stof in het lichaam en de relatieve hormonale activiteit van de verschillende stoffen die bijdragen aan de gemeten activiteit in de CALUX-assays. De triggervalue zijn (Brand *et al.*, 2013):

- ER-CALUX: 3,8 ng 17 β -oestradiol equivalenten (EEQ)/L
- AR-CALUX: 11 ng/l dihydrotestosteron (DHT) eq./L
- GR-CALUX: 21 ng dexamethason (DEX) eq./L
- PR-CALUX: 333 ng Org2058 eq./L (Org 2058 is een potent synthetisch progestageen hormoon; de potentie van progesteron is 0,074x die van Org 2058; mededeling Harrie Besselink, Biodetection Systems).

Voor de anti-AR-CALUX activiteit zijn geen openbare meetgegevens uit andere onderzoeken, geen conceptnormen voor de referentiestof en geen trigger values voor de mens bekend. Onderzoek naar het effect van de referentiestof flutamide op stekelbaarsjes (Sebire *et al.*, 2008) heeft echter uitgewezen dat het reproductie gedrag vanaf 100 μ g flutamide/L wordt beïnvloed: stekelbaars mannetjes maken minder nesten en vertonen minder van het typische gedrag om vrouwtjes naar de nesten te lokken. Bij 500 en 1000 μ g/L wordt minder 'spiggin' (een plakend eiwit dat gebruikt wordt om nesten te bouwen) geproduceerd en worden in het geheel geen nesten meer gebouwd. Voor de

duiding van de resultaten van de anti-AR-CALUX activiteit wordt aangehouden dat boven de 100 µg/L (d.w.z. 100.000 ng/L) ecologische effecten niet uit te sluiten zijn.

Uit bovenstaand overzicht blijkt dat er voor de gehalten in de vaste fasen (bodem, mest, dikke fractie) geen referentiegehalten, conceptnormen of trigger values zijn om de resultaten verder te kunnen duiden.

Tabel B6-1

Gemeten CALUX-activiteiten in diverse matrices uit de literatuur. Gehalten in ng equivalenten referentiestof per liter (vloeibare fasen) of ng equivalenten per gram drooggewicht (vaste fasen).

Matrix	ER ^α -CALUX (ng EEQ/L of ng EEQ/g dw)	AR-CALUX (ng DHT eq/L)	anti-AR- CALUX (ng FLU eq/L)	GR-CALUX (ng DEX eq/L)	PR-CALUX (ng Org2058 eq/L)	Referenties
Grondwater	vrijwel altijd <d.l. - 0,1 (n=?)	-	-	-	-	p.m.
Oppervlaktewater	<d.l. - 13,7 (n=332)	<d.l. - 12 (n=57)	1981- 111421 ^c (n=4)	<d.l. - 120 (n- 68)	<d.l. - 4,5 (n=57)	Schriks <i>et al.</i> , 2012
RWZI-effluent	<d.l. - 85,5 (n=125) ^a	0,75 - 0,83 (n=2)	-	11 - 18327 (n=29) ^b	0,78 - 0,86 (n=2)	p.m.
Sediment	1,22 - 10,4 (n=?)	-	-	-	-	p.m. (LOES)
Bodem	-	-	-	-	-	

a Hoge waarden betreffen uitschieters. Meestal <10 ng EEQ/L.

b Hoge waarden betreffen uitschieters. Meestal <200 ng DEX eq/L.

b Zeer variabele waarden aangetroffen in extracten van 'passive samplers' van diverse oppervlaktewateren; Schriks *et al.* (2012).

Chemische analyses

In deze studie zijn verschillende chemische analyses gedaan. In pilot 1 zijn ontwormingsmiddelen bestudeerd. Voor deze diergeneesmiddelen bestaan geen wettelijke normen voor concentraties in milieucompartimenten als water, bodem en sediment. Toxiciteitstesten laten echter zien dat concentraties van 0,001 ng/L (ver beneden de detectielimiet) al een effect op reproductie en groei van watervlooien kunnen veroorzaken (Garric *et al.*, 2007). In modeecosystemen lag het effectniveau echter hoger: vanaf 100 ng/L (Boonstra *et al.*, 2011). Concentraties boven deze waarden in water vormen mogelijk een risico voor het aquatische ecosysteem. Voor concentraties in bodem en sediment is niet bekend welke concentratie een risico vormt, voor mest is dit vaker bestudeerd. In Tabel B6-2 in deze Bijlage is daarom een overzicht opgenomen van waargenomen effecten op verschillende soorten organismen in representatieve studies die zijn samengevat in de review door Lumaret *et al.* (2012).

Voor hormonen en (dier)geneesmiddelen bestaan geen officiële normen in milieucompartimenten als water, bodem en sediment. Er zijn echter wel diverse instanties die (voorlopige) grenswaarden hebben opgesteld voor concentraties in water. Zo zijn er conceptnormen opgesteld voor het vrouwelijke hormonen 17β-oestradiol en voor een aantal geneesmiddelen. Het betreft Nederlandse (ad hoc) MTR-waarden en streefwaarden, conceptnormen binnen de Kader Richtlijn Water en Zwitserse conceptnormen. Al deze normen hebben betrekking op oppervlaktewater. De Zwitserse conceptnormen zijn opgesteld volgens de methodiek die ook voor de KRW wordt gebruikt. Daarnaast zijn door Smit & Wuijts (2012) in factsheets conceptnormen en Predicted No Effect Concentraties (PNECs) uit diverse bronnen opgenomen. Tenslotte zijn door van der Aa *et al.* (2011) voor een aantal geneesmiddelen voorlopige Predicted No Effect Concentraties in water opgesteld. Onder deze concentraties wordt geen effect verwacht. Een overzicht van al deze waarden en (concept)normen in water wordt gegeven in Tabel B6-3. De waarden die uiteindelijk in de risicobeoordeling zijn gebruikt zijn cursief gedrukt. In principe betreft dit de laagste waarde, maar daar waar meerdere waarden beschikbaar waren is de betrouwbaarheid van de waarde ook meegewogen.

Voor bodem en sediment bestaan er ook bijna geen concept-normen en streefwaarden.

Uitzonderingen zijn 17β-oestradiol met een ad hoc MTR voor bodem en sediment van 0,00901 mg/kg

en 17 α -ethinyloestradiol met een streefwaarde voor standaard bodem (met 10% organisch stof) van 0,021 ng/kg drooggewicht en een MTR waarde voor bodem van 0,0021 μ g/kg drooggewicht.

Voor humane risico's is het TTC concept ontwikkeld (threshold of toxicological concern; Schriks *et al.*, 2010). De TTC is afgeleid van toxiciteitsgegevens van een groot aantal stoffen. Het is een behoudende drempelwaarde, waarbij op basis van beschikbare toxiciteitsgegevens voor een groot aantal stoffen wordt gesteld dat van stoffen die geen hormonale of genotoxische effecten hebben bij een concentratie van minder 0,1 μ g/L geen effect te verwachten is. Voor stoffen die wel hormonale of genotoxische effecten hebben wordt een lagere drempelwaarde van 0,01 μ g/L gehanteerd. Dit wil niet zeggen dat een concentratie nét boven deze drempelwaarde wél een effect heeft, maar enkel dat dit effect niet is uit te sluiten (van der Kooij *et al.*, 2010). Voor geneesmiddelen bestaan geen ecologische normen. Geneesmiddelen zijn net als gewasbeschermingsmiddelen (en andere biociden) bedoeld om een biologisch systeem te beïnvloeden. Voor gewasbeschermingsmiddelen is de wettelijke norm in oppervlaktewater en grondwater op 0,1 μ g/L gesteld voor individuele stoffen. Het Donau Rijn Maas memorandum hanteert daarom ook voor geneesmiddelen 0,1 μ g/L als streefwaarde (Wirtz, 2009). De concentraties van de stoffen in water zullen met de bovengenoemde streefwaarden worden vergeleken.

In de huidige studie zijn ook sediment/slib en bodem onderzocht. Het risico van stoffen in sediment of bodem wordt bepaald door het sorptiegedrag van de stoffen aan het materiaal. Het sorptiegedrag van de betreffende stoffen hangt af van een groot aantal factoren zoals de samenstelling van het sediment, pH (zuurgraad), zoutgehalte van het water en de fysisch chemische eigenschappen van de betreffende stoffen (Schwarzenbach *et al.*, 2003). Hormonen binden doorgaans sterk aan bodem en sediment, terwijl het sorptiegedrag van geneesmiddelen zeer divers is (Pan *et al.*, 2009; Williams *et al.*, 2009). Het is daarom niet makkelijk om voor deze stoffen streefwaarden of drempelwaarden voor de betreffende stoffen af te leiden. Er bestaan, voor zover bij de auteurs bekend, dan ook geen uniforme streefwaarden voor geneesmiddelen in sediment, wel zijn er diverse studies waar het risico van de aanwezigheid van individuele geneesmiddelen en antibiotica is bepaald.

Ten slotte zijn in deze studie in Pilot 1 en 4 ook mest (in Pilot 4 ook verschillende fracties van drijfmest in mestverwerkende installaties) onderzocht. Het is de vraag of voor dergelijke geconcentreerde stromen gelijke criteria moeten worden opgesteld als voor bodem en sediment. In de mestverwerking is het voor het effluent te verdedigen dat dezelfde criteria worden gehanteerd omdat dit effluent op oppervlaktewater of op het riool wordt geloosd. Voor de mest, het concentraat en de dikke fractie zijn deze criteria mogelijk te stringent omdat ze op of in de bodem sterk worden verdund. Welke criteria dan moeten worden gehanteerd zal echter nog uit onderzoek moeten volgen.

In Nederland is een studie uitgevoerd naar de gehalten van antibiotica en steroïdhormonen in varkensdrijfmest en de concentraties in de bodem en het grondwater na injectie. Deze gegevens worden samengevat in respectievelijk Tabel B6-4 en Tabel B6-5. Voor zover bekend is dit de enige studie van zijn soort in Nederland.

Tabel B6-2

Literatuurgegevens voor de toxiciteit van ivermectine voor verschillende organismen in mest, bodem, sediment en oppervlaktewater. Per soort medium zijn de gegevens gerangschikt in afnemende toxiciteit. Gegevens uit Lumaret et al. (2012).

Organisme	Wet. naam	Medium	Parameter	Waarde & eenheid ¹	Referentie ²
Mestvlieg	<i>Scatophaga stercoraria</i>	Mest	10d-EC50 (emergence)	1 µg/kg d.w.	Strong & James, 1993
Mestvlieg	<i>Musca autumnalis</i>	Mest	EC50 (emergence)	4.65 µg/kg f.w.	Roembke Et al., 2010
Mestvlieg	<i>Scatophaga stercoraria</i>	Mest	10d-EC50 (pupation)	20 µg/kg d.w.	Strong & James, 1993
Mestvlieg	<i>Scatophaga stercoraria</i>	Mest	LC50 (egg to adult)	20,9 µg/kg f.w.	Roembke Et al., 2009
Mestvlieg	<i>Scatophaga stercoraria</i>	Mest	48u-LC50	40 µg/kg d.w.	Strong & James, 1993
Mestvlieg	<i>Neomyia cornicina</i>	Mest	LC50	139 µg/kg f.w.	Gover & Strong, 1995
Mestkever	<i>Aphodius constans larvae</i>	Mest	3wk-LC50	590 µg/kg f.w.	Lumaret Et al., 2007
Mestkever	<i>Aphodius constans</i>	Mest	LC50	880-980 µg/kg d.w.	Hempel Et al., 2006
Springstaart	<i>Folsomia candida</i>	Grond	28d-EC50 (reproductie)	900 µg/kg d.w.	Jensen Et al., 2003
Springstaart	<i>Folsomia candida</i>	Grond	28d-EC50 (reproductie)	1700 µg/kg d.w.	Roembke Et al., 2010
Springstaart	<i>Folsomia candida</i>	Grond	28d-LC50	5300 µg/kg d.w.	Jensen Et al., 2003
Regenworm	<i>Eisenia fetida</i>	Grond	56 d EC50 (reproductie)	5300 µg/kg d.w.	Roembke Et al., 2010
Springstaart	<i>Folsomia candida</i>	Grond	28d-LC50	12400 µg/kg d.w.	Roembke Et al., 2010
Regenworm	<i>Eisenia fetida</i>	Grond	14d-LC50	15800 µg/kg d.w.	Kolar Et al., 2008
Roofmijt	<i>Hypoaspis aculeifer</i>	Grond	16d-EC50 (reproductie)	17800 µg/kg d.w.	Roembke Et al., 2010
Roofmijt	<i>Hypoaspis aculeifer</i>	Grond	16d-LC50	31600mg µg/kg d.w.	Roembke Et al., 2010
Potworm	<i>Enchytraeus crypticus</i>	Grond	28d-EC50 (reproductie)	36000 µg/kg d.w.	Jensen Et al., 2003
Potworm	<i>Enchytraeus crypticus</i>	Grond	28d-LC50	>300000 µg/kg d.w.	Jensen Et al., 2003
Watervlo	<i>Daphnia magna</i>	Sediment	48h-EC50	39 µg/kg	Halley Et al., 1993
Muggenlarve	<i>Chironomus riparius</i>	Sediment	10d-NOEC (larvale groei)	3100 µg/kg d.w.	Egeler Et al., 2010
Watervlo	<i>Daphnia magna</i>	Water	21d-LOEC (groei, reproductie)	0,001 ng/L	Garric Et al., 2007
Watervlo	<i>Daphnia magna</i>	Water	48u-EC50 (immobilisatie)	5,7 µg/L	Garric Et al., 2007
Slak	<i>Biomphalaria glabrata</i>	Water	24u-LC50	30 µg/L	Matha & Weiser, 1988
Tubifex	<i>Lumbriculus variegates</i>	Water	72u-LC50	c. 490 µg/L	Ding Et al., 2001
Slak	<i>Monodonta lineata</i>	Water	96u-LC50	780 µg/L	Boxall Et al., 2002; Davies & Rodger, 2000
Groene alg	<i>Pseudokirchneriella subcapitata</i>	Water	LOEC (groei, productie)	1250 µg/L	Garric Et al., 2007

¹ f.w. = versgewicht, d.w. is drooggewicht

² Referenties in deze Tabel zijn niet opgenomen in de literatuurlijst van het rapport, maar kunnen worden opgezocht in Lumaret Et al. (2012).

Tabel B6-3.

Overzicht van conceptnormen en Predicted No Effect Concentraties (PNEC) in water. Alleen hormonen en geneesmiddelen die gemeten zijn, zijn opgenomen. De waarden die gebruikt zijn voor de risicobeoordeling zijn onderstreept. Ter informatie is ook de kwantificatielimiet van de betreffende stof weergegeven. Voor stoffen die niet gevoelig genoeg gemeten kunnen worden (d.w.z. de norm is lager dan de kwantificatielimiet) is de kwantificatielimiet cursief weergegeven. Voor een toelichting op de gebruikte afkortingen en de referenties zie onderschrift tabel.

Stof	Eenheid	Detectie- limiet	KRW	Zwitserland	Nederland	EOS, (voorlo- pige) PNEC enz. uit Smit & Wuyts, 2012	Voor- lopige PNEC uit van der Aa <i>et al.</i> , 2011		
			concept AA_EQS	concept MAC-EQS	concept AA_EQS			ad hoc MTR opgelost	ad hoc streef- waarde
17b-oestradiol	µg/l	0,01	<u>0,0004</u>	-	0,0004	0,143	0,00143	-	-
oestron	µg/l	0,01	-	-	-	0,322	<u>0,00322</u>	-	-
atenolol	µg/l	0,01	-	330	<i>150</i>	-	-	-	-
bezafibraat	µg/l	0,01	-	76	<u>0,46</u>	-	-	-	-
carbamazepine	µg/l	0,01	-	2550	<u>0,5</u>	-	-	0,5	170
diclofenac	µg/l	0,01	<u>0,1</u>	-	0,05	-	-	-	31
erythromycine	µg/l	0,025	-	2,3	<u>0,04</u>	-	-	-	-
fenazon	µg/l	0,01	-	-	-	-	-	>500	-
fluoxetine	µg/l	0,01	-	-	-	-	-	-	<u>1,12</u>
furosemide	µg/l	0,01	-	-	-	-	-	-	<u>320000</u>
ibuprofen	µg/l	0,5 ¹	-	23	<u>0,3</u>	-	-	-	-
ivermectin	µg/l	0,058	-	-	-	-	-	<u>0,00000003</u>	-
lincomycin	µg/l	0,01	-	-	-	-	-	<u>0,03</u>	-
metformin	µg/l	0,05	-	-	-	-	-	<u>64</u>	≥ 240
metoprolol	µg/l	0,01	-	76	<u>64</u>	-	-	0,5	-
naproxen	µg/l	0,01	-	370	<u>1,7</u>	-	-	-	-
oxytetracycline	µg/l	0,005	-	-	-	-	-	<u>0,31</u>	-
paracetamol	µg/l	0,01	-	-	-	-	-	-	<u>9,2</u>
sotalol	µg/l	0,01	-	-	-	-	-	<u>100</u>	-
sulfamethoxazol	µg/l	0,01	-	2,7	<u>0,6</u>	-	-	0,6	0,59
trimethoprim	µg/l	0,01	-	1100	<u>60</u>	-	-	-	16

¹Betreeft de kwantificatielimiet voor hydroxy ibuprofen, een omzettingsproduct van ibuprofen

Toelichting bij Tabel B6-3.

Gebruikte afkortingen:

KRW = Europese Kader Richtlijn Water, EQS = Environmental Quality Standard, AA = Annual Average (jaargemiddelde concentratie, beschermt tegen lange termijn effecten), MAC = Maximum Acceptable Concentration (maximum concentratie, beschermt tegen acute effecten), MTR = Maximaal Toelaatbaar Risico. MTR = maximaal toelaatbaar risico. Het MTR geeft het kwaliteitsniveau aan dat op korte termijn minimaal zal moeten worden gehaald. Daar waar het MTR nu al is bereikt, zijn de streefwaarden het ijkpunt. De streefwaarden geven het kwaliteitsniveau aan dat op de langere termijn nagestreefd wordt. Ad hoc norm betekent dat deze norm met een versnelde, kortere procedure is opgesteld. Het betreft een indicatieve norm, die vervalt als een officiële norm wordt vastgesteld.

Bronnen: European Commission (2012), Oekotoxentrum (2012), Smit en Wuijts (2012), van der Aa *et al.* (2011), <http://www.rivm.nl/rvs/Normen>.

Tabel B6-4

Gehalten antibiotica in varkensdrijfmest en in de bodem en het grondwater na injectie (Schilt & van de Lagemaat, 2009). Uitsluitend antibiotica die zijn aangetroffen boven de kwantificatielimiet.

	Tetracyclines					Sulfanomiden					Quino- lonen
	4-epi- Tetra- cycline	Tetra- cycline	4-epi- Oxytetra- cycline	Oxytetra- cycline	Doxy- cycline	Sulfa- diazine	Sulfa- thiazol	Sulfa- metha- zin	Sulfa- methoxa- zol	Sulfa- guani- dine	Oxolinic acid
Mest (µg/kg f.w.)	<5-12	<2,5-10	<5-608	21-1973	109- 1292	3,1-23,2	<0,5- 2,4	<0,5 ¹	<0,5	<5 ¹	<0,5- 1,6
Bodem (µg/kg f.w.)	-	-	-	<2,5 ¹	<2,5 ¹	<0,5	<2,5	<0,5	<0,5	<2,5 ¹	<0,5
Grondwater (ng/L)	<5	<1	<5	<1	<5	<1 ¹	<1	<1-1,8	<1-2,2	<1-3,5 ²	<1

1 wel spoorpjes onder kwantificatielimiet aangetroffen

2 niet betrouwbaar

Tabel B6-5

Gehalten steroidhormonen in varkensdrijfmest en in de bodem en het grondwater na injectie (Lahr *Et al.*, 2010).

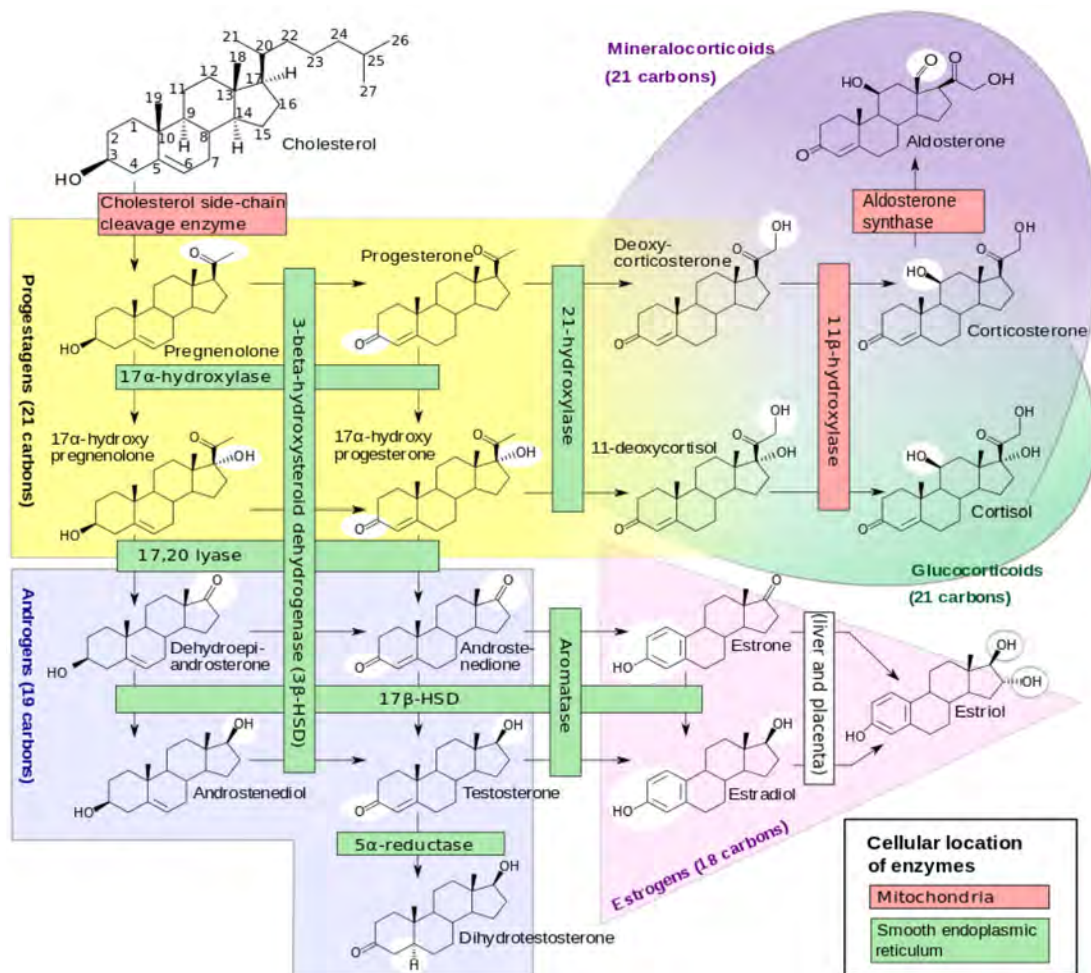
Steroidhormoon	Afkorting	Mest (µg/kg f.w.)	Bodem (µg/kg f.w.)	Grondwater (ng/L)
17α-nortestosteron	17α-NT	<0,05	<0,03	<0,1
17β-nortestosteron	17β-NT	<0,05	<0,05	<0,1-0,1
Nor-4-androstenedion (NAED)	NAED	<0,10-0,64	<0,05	<0,5
17α-testosteron	17α-T	<0,03-3,09	0,04-0,13	<0,1
17β-testosteron	17β-T	<0,03-0,77	0,01-0,05	0,1-0,2
Androst-4-ene-3,17-dion	AED	0,84-3,88	0,06-0,19	<0,1-0,2
Dihydrotestosteron	DHT	<0,05-1,97	<0,1-0,25	<0,5-0,5
17α-boldenon	17α-Bol	<0,05-8,45	<0,02-0,09	<0,1-1,3
17β-boldenon	17β-Bol	<0,05-0,61	<0,01-0,03	<0,1-0,3
Androst-1,4-diene-3,17-dion	ADD	0,41-15,05	0,08-0,20	<0,1-1,1
Oestron	E1	4,31->300	0,03-1,09	<0,1-5,8
17α-Oestradiol	17α-E2	0,40-10,97	<0,02-0,11	<0,5-1,1
17β-Oestradiol	17β-E2	0,97-6,29	<0,02-0,18	<0,1-0,5
Progesteron	-	0,15-5,13	0,23-0,52	0,1-0,4
Pregnaandiol	-	18,97-32,64	0,10-2,68	<0,1-3,6

Bijlage 7 Steroidhormonen

Steroidhormonen zijn een groep van hormonen met een typische kenmerkend steroidstructuur. Er worden vijf groepen onderscheiden, de progestagenen (zwangerschapshormonen), androgenen (mannelijke hormonen), oestrogenen (vrouwelijke hormonen), glucocorticoiden (stresshormonen) en mineralcorticoiden (regeling van de water-zout balans). De eerste vier groepen zijn in dit onderzoek meegenomen.

Zoals in onderstaande Figuur is te zien worden de steroidhormonen gevormd uit cholesterol en door verschillende enzymen in elkaar omgezet.

Behalve deze natuurlijke hormonen bestaan er ook synthetische varianten met een min of meer vergelijkbare werking.



Referentie: Häggström, M. en D. Richfield, 2014. 'Diagram of the pathways of human steroidogenesis'. Wikiversity Journal of Medicine 1 (1). DOI:10.15347/wjm/2014.005. ISSN 20018762.

Bijlage 8 Massabalans MVI's

Massabalans in mestverwerkende installaties berekend met de stromen in en uit de installaties en de respectievelijke waarden en concentraties.

Parameter/stof	Bedrijf	Mest	Dikke fractie		Concentraat		Effluent		Som fracties
		Vracht $\mu\text{g}/\text{jr.}$	Vracht $(\mu\text{g}/\text{jr.})$	Fractie	Vracht $(\mu\text{g}/\text{jr.})$	Fractie	Vracht $(\mu\text{g}/\text{jr.})$	Fractie	
ER-CALUX	B	600000	100000	0,17	3913	0,007	0	0,00000	0,17
	C	117500	70000	0,60	3072	0,026	67,2	0,00057	0,62
	D	110000	75000	0,68	2216	0,020	238,5	0,00217	0,70
	F	40000	20250	0,51	3420	0,086	6,875	0,00017	0,59
AR-CALUX	B	8000	30000	3,75	1100	0,138	0	0,00000	3,89
	C	4750	10500	2,21	0	0,000	0	0,00000	2,21
	D	4200	3300	0,79	580	0,138	4,95	0,00118	0,92
	F	3500	7500	2,14	413	0,118	0	0,00000	2,26
anti AR-CALUX	B	8250000	0	0,00	3814363	0,462	0	0,00000	0,46
	C	0	0	-	6236776	-	1020792	-	-
	D	1380000	939000	0,68	303012	0,220	89770,5	0,06505	0,97
	F	20275000	975	0,00	431370	0,021	0	0,00000	0,02
Oxytetracycline	B	36200000	4570000	0,13	525000	0,015	0	0,00000	0,14
	C	5950000	1300000	0,22	1336000	0,225	0	0,00000	0,44
	D	950000	115500	0,12	344000	0,362	0	0,00000	0,48
	F	22075000	3558750	0,16	3960	0,000	0	0,00000	0,16
Doxycycline	B	158517326	18116050	0,11	1445563	0,009	159472,5	0,00101	0,12
	C	119668598	43016815	0,36	11357416	0,095	402936	0,00337	0,46
	D	24535500	2027034	0,08	3559800	0,145	139185	0,00567	0,23
	F	97829506	37062970	0,38	9801825	0,100	615065	0,00629	0,49
Sulfadiazine	B	11250000	240000	0,02	3300000	0,293	0	0,00000	0,31
	C	450000	60000	0,13	272000	0,604	0	0,00000	0,74
	D	0	0	-	0	-	0	-	-
	F	250000	18750	0,08	150000	0,600	0	0,00000	0,68
Flumequine	B	0	0	-	0	-	0	-	-
	C	0	0	-	0	-	0	-	-
	D	0	0	-	0	-	0	-	-
	F	1000000	671250	0,67	112500	0,113	0	0,00000	0,78
Andros-4-ene-3,17-dione	B	165000	435000	2,64	7500	0,045	0	0,00000	2,68
	D	0	6450	-	0	-	45	-	-
Oestron	B	450000	214000	0,48	61250	0,136	0	0,00000	0,61
	D	94000	25500	0,27	23600	0,251	1800	0,01915	0,54
17 α -oestradiol	B	60000	23000	0,38	5000	0,083	0	0,00000	0,47
	D	17000	1500	0,09	8000	0,471	135	0,00794	0,57
17 β -oestradiol	B	245000	141000	0,58	0	0,000	0	0,00000	0,58
	D	50000	21600	0,43	2400	0,048	135	0,00270	0,48
Progesteron	B	1000	1000	1,00	250	0,250	0	0,00000	1,25
	D	5000	1800	0,36	400	0,080	0	0,00000	0,44

Alterra Wageningen UR
Postbus 47
6700 AA Wageningen
T 0317 48 07 00
www.wageningenUR.nl/alterra

Alterra-rapport 2538
ISSN 1566-7197



Alterra Wageningen UR is hét kennisinstituut voor de groene leefomgeving en bundelt een grote hoeveelheid expertise op het gebied van de groene ruimte en het duurzaam maatschappelijk gebruik ervan: kennis van water, natuur, bos, milieu, bodem, landschap, klimaat, landgebruik, recreatie etc.

De missie van Wageningen UR (University & Research centre) is 'To explore the potential of nature to improve the quality of life'. Binnen Wageningen UR bundelen 9 gespecialiseerde onderzoeksinstituten van stichting DLO en Wageningen University hun krachten om bij te dragen aan de oplossing van belangrijke vragen in het domein van gezonde voeding en leefomgeving. Met ongeveer 30 vestigingen, 6.000 medewerkers en 9.000 studenten behoort Wageningen UR wereldwijd tot de aansprekende kennisinstellingen binnen haar domein. De integrale benadering van de vraagstukken en de samenwerking tussen verschillende disciplines vormen het hart van de unieke Wageningen aanpak.

To explore
the potential
of nature to
improve the
quality of life



Alterra Wageningen UR
Postbus 47
6700 AB Wageningen
T 317 48 07 00
www.wageningenUR.nl/alterra

Alterra-rapport 2538
ISSN 1566-7197

Alterra Wageningen UR is hét kennisinstituut voor de groene leefomgeving en bundelt een grote hoeveelheid expertise op het gebied van de groene ruimte en het duurzaam maatschappelijk gebruik ervan: kennis van water, natuur, bos, milieu, bodem, landschap, klimaat, landgebruik, recreatie etc.

De missie van Wageningen UR (University & Research centre) is 'To explore the potential of nature to improve the quality of life'. Binnen Wageningen UR bundelen 9 gespecialiseerde onderzoeksinstituten van stichting DLO en Wageningen University hun krachten om bij te dragen aan de oplossing van belangrijke vragen in het domein van gezonde voeding en leefomgeving. Met ongeveer 30 vestigingen, 6.000 medewerkers en 9.000 studenten behoort Wageningen UR wereldwijd tot de aansprekende kennisinstellingen binnen haar domein. De integrale benadering van de vraagstukken en de samenwerking tussen verschillende disciplines vormen het hart van de unieke Wageningen aanpak.

