Zeitschrift: Mitteilungen aus dem Gebiete der Lebensmitteluntersuchung und Hygiene = Travaux de chimie alimentaire et d'hygiène

Herausgeber: Bundesamt für Gesundheit

Band: 84 (1993)

Heft: 6

Artikel: Vorkommen und gesundheitliche Bedeutung von Nebenprodukten der Trinkwasserchlorierung, speziell des Chlorhydroxyfuranons (MX) = Occurrence and health significance of disinfection by-products in chlorinated drinking water, especially of chlorohydroxyfura...

Autor: Zimmerli, B. / Schlatter, J.

DOI: https://doi.org/10.5169/seals-982154

Nutzungsbedingungen

Die ETH-Bibliothek ist die Anbieterin der digitalisierten Zeitschriften auf E-Periodica. Sie besitzt keine Urheberrechte an den Zeitschriften und ist nicht verantwortlich für deren Inhalte. Die Rechte liegen in der Regel bei den Herausgebern beziehungsweise den externen Rechteinhabern. Das Veröffentlichen von Bildern in Print- und Online-Publikationen sowie auf Social Media-Kanälen oder Webseiten ist nur mit vorheriger Genehmigung der Rechteinhaber erlaubt. Mehr erfahren

Conditions d'utilisation

L'ETH Library est le fournisseur des revues numérisées. Elle ne détient aucun droit d'auteur sur les revues et n'est pas responsable de leur contenu. En règle générale, les droits sont détenus par les éditeurs ou les détenteurs de droits externes. La reproduction d'images dans des publications imprimées ou en ligne ainsi que sur des canaux de médias sociaux ou des sites web n'est autorisée qu'avec l'accord préalable des détenteurs des droits. En savoir plus

Terms of use

The ETH Library is the provider of the digitised journals. It does not own any copyrights to the journals and is not responsible for their content. The rights usually lie with the publishers or the external rights holders. Publishing images in print and online publications, as well as on social media channels or websites, is only permitted with the prior consent of the rights holders. Find out more

Download PDF: 12.07.2025

ETH-Bibliothek Zürich, E-Periodica, https://www.e-periodica.ch

Mitt. Gebiete Lebensm. Hyg. **84**, 662–676 (1993)
Eingegangen 7. Oktober 1993. Angenommen 4. November 1993

Vorkommen und gesundheitliche Bedeutung von Nebenprodukten der Trinkwasserchlorierung, speziell des Chlorhydroxyfuranons (MX)

Occurrence and Health Significance of Disinfection By-Products in Chlorinated Drinking Water, Especially of Chlorohydroxyfuranone (MX)

B. Zimmerli und *J. Schlatter*
Bundesamt für Gesundheitswesen, Abteilung Lebensmittelwissenschaft, Bern

Einleitung

Gesamtschweizerisch wird das Trinkwasserangebot zu etwa 40% aus Grundwasser, 43% aus Quellwasser und 17% aus aufbereitetem Oberflächenwasser (vorwiegend Seewasser) gewonnen[1]. Während bei kleinen Versorgungsgebieten (<10 000 Einwohner) der Quellwasseranteil über 60% beträgt, sinkt er bei Wasserversorgungen mit mehr als 50 000 Einwohnern insbesondere zugunsten von Oberflächen- und z. T. auch Grundwasser auf unter 20% (1).

Während Oberflächenwasser und teilweise auch Quellwasser vor dem Gebrauch als Trinkwasser «desinfiziert» werden muss, ist dies in der Regel für Grundwasser nicht nötig. Im streng mikrobiologischen Sinn erhebt das Wort «Desinfektion» Anspruch auf Keimfreiheit. Im Trinkwasserbereich wird aber unter dem Begriff «Desinfektion» in erster Linie die Abtötung pathogener Mikroorganismen verstanden. Da sich dieser Begriff im Zusammenhang mit Trinkwasser u. a. auch im Englischen eingebürgert hat, soll er im folgenden beibehalten werden. Als Desinfektionsmittel dienen Oxidationsmittel wie Chlor, Ozon und Chlordioxid. Die ebenfalls eingesetzte UV-Strahlung hat eine direkte Wirkung auf die Mikroorganismen. Chlor in der einen oder anderen Form ist seit fast Anfang dieses Jahrhunderts die preiswerteste und meist gebrauchte Chemikalie zur Trinkwasserdesinfektion (2).

[1] Für Finnland lauten die entsprechenden Prozentzahlen für Grundwasser und Oberflächenwasser je rund 50%, für die Niederlande und Belgien etwa 70% Grundwasser und 30% Oberflächenwasser. In Norwegen, Schweden und Grossbritannien stammen 70–90% des Trinkwassers aus Oberflächenwasser (1).

Enthält das zur Desinfektion bestimmte Wasser neben anorganischen Stoffen wie etwa Bromid auch organische Stoffe natürlicher (*Huminstoffe*)[2] oder anthropogener Herkunft, so laufen unter dem Einfluss des Oxidationsmittels chemische Reaktionen ab, die zum Abbau der vorhandenen und zur Bildung neuer, teilweise potentiell toxisch wirkender Stoffe führen können (Desinfektionsnebenprodukte, disinfection by-products, DBP). Auf die DBP in Trinkwasser aufmerksam gemacht wurde anfangs der 70er Jahre. Die Fortschritte der analytischen Chemie erlaubten es, immer kleinere Mengen von Stoffen in Umwelt und Lebensmitteln zu identifizieren und quantifizieren.

Grundwasser hoher Qualität kann natürlicherweise bis zu etwa 2 mg/l organische Stoffe (oder als organischer Kohlenstoff [TOC] gerechnet etwa 1 mg/l) und Oberflächenwasser bis zu etwa 40 mg/l (TOC 20 mg/l) enthalten (2). In Finnland werden Oberflächenwässer mit TOC-Werten von 3–30 mg/l zur Trinkwasseraufbereitung verwendet. Entsprechendes konsumbereites Trinkwasser zeigt noch TOC-Werte im Bereich von 1–10 mg/l (5). Schweizerische Oberflächenwässer zur Trinkwasseraufbereitung zeigen in der Regel TOC-Werte von weniger als 5 mg/l, typischerweise solche im Bereich von 1–2 mg/l. Die huminstoffreichsten Wässer in der Schweiz dürften jene aus Torfgebieten sein. Diese sind in der Regel von sehr guter bakteriologischer Qualität und bedürfen daher keiner Desinfektion (6).

Die im Rohwasser vorhandenen organischen Stoffe lassen sich durch dessen Vorbehandlungen, wie z. B. Aktivkohlefiltration, zwar weitgehend aber kaum vollständig entfernen. Je nach Art des Desinfektionsmittels, Zusammensetzung des Rohwassers und weiteren Parametern werden bei der Desinfektion unterschiedliche Stoffe gebildet. Jedes Rohwasser muss deshalb individuell betrachtet werden. Bezüglich des Ausmasses der Bildung *toxikologisch relevanter DBP* in Abhängigkeit des verwendeten Desinfektionsmittels scheint qualitativ etwa folgende Reihenfolge zu gelten (2, 7): Chlorgas (Cl_2), Hypochlorit ($NaOCl$) > Chlordioxid (ClO_2) > Ozon (O_3) > UV-Strahlung. Je grösser die Konzentrationen an organischen Stoffen im ursprünglichen Wasser sind, desto höhere Mengen an Desinfektionsmittel müssen zur Erzielung einer ausreichenden Desinfektion eingesetzt werden und desto höhere Konzentrationen potentiell toxischer Spurenstoffe können gebildet werden (5).

Im chlorierten Trinkwasser einiger Städte in den USA wurden rund 2500 Stoffe festgestellt, von denen etwa die Hälfte identifiziert wurden. Ihre Konzentrationen betragen in der Regel, abgesehen von den Trihalogenmethanen (THM) und Halo-

[2] Huminstoffe (Geopolymere): polymere Abbauprodukte weitgehend unbekannter Strukturen von Pflanzen, Tieren und Mikroorganismen: *Huminsäure* (löslich bei hohem pH, unlöslich bei tiefem pH und in Alkohol), *Fulvinsäure* (bei hohem und tiefem pH löslich) und *Humin* (sowohl bei hohem als auch tiefem pH unlöslich).
Huminstoffe zeigen auch *biologische Aktivitäten* (3, 4): Zum Beispiel gelang es in China, durch die Verabreichung von Fulvinsäure in Mengen von ca. 210 mg/l im Trinkwasser bei Mäusen mit Selenmangel in der zweiten Generation kollagenbedingte Skelettveränderungen auszulösen, die jenen ähnlich sind, welche in gewissen Gebieten Chinas endemisch sind (Kashin-Beck-Krankheit).

genessigsäuren, deutlich weniger als 1 µg/l (2, 8). Allgemein toxische Effekte solch kleiner Konzentrationen von Stoffen sind nicht zu erwarten. Hingegen bedürfen mögliche mutagene oder kanzerogene Wirkungen einiger Stoffe einer genaueren Betrachtung.

Nebenprodukte der Trinkwasserchlorierung

Allgemeines

Als Hauptprodukte der Chlorierung von huminstoffhaltigem Rohwasser gelten THM (z. B. Chloroform) und chlorierte Essigsäuren[3]. Weitere Stoffe, die in chloriertem Trinkwasser u. a. vorkommen können, sind z. B. Chloracetonitrile, Chlorheptanone, Chlorpikrin, Chloralhydrat, Chloracetaldehyd, 4-Chlorresorcin, 5-Chloruracil sowie chlorierte Hydroxyfuranone. Die Konzentrationen dieser weiteren Stoffe liegen im Bereich von Bruchteilen bis zu maximal einigen µg/l. Viele der aus chloriertem Trinkwasser isolierten Stoffe sowie entsprechende Extrakte zeigten eine mutagene Aktivität.

Viele Mutagene wirken auch kanzerogen. Körperfremde Stoffe werden deshalb heute üblicherweise mit einem «Screening-Test» auf eine potentielle mutagene Aktivität geprüft. Allgemein durchgesetzt hat sich dabei ein In-vitro-Verfahren mit Bakterienzellen (*Salmonella typhimurium,* Ames-Test). Es ist üblich, diesen Test mit und ohne die Zugabe von externen Aktivierungssystemen (Lebermikrosomen) durchzuführen. Dabei kann zwischen Substanzen unterschieden werden, die im Säugetierstoffwechsel zuerst aktiviert werden müssen, um mutagen zu wirken, und solchen, die direkt, d. h. ohne enzymatische Aktivierung, wirken bzw. solche, die durch den entsprechenden Metabolismus sogar inaktiviert werden.

Werden geeignete Extrakte von chloriertem Trinkwasser bzw. deren Konzentrate in diesem Test geprüft, so wird in der Regel eine mutagene Aktivität gefunden (7, 8). Etwa 90% der Gesamtmutagenität wird dabei nichtflüchtigen Stoffen mit sauren Eigenschaften zugeschrieben, deren chemische Strukturen weitgehend unbekannt sind (9). Für die Bildung genotoxisch wirkender Stoffe bei der Chlorierung scheinen besonders Stoffe mit phenolischen Gruppen und aromatische Aminosäuren wichtig zu sein. Beispielsweise scheint sich Tyrosin im Hinblick auf viele Produkte gut als Modellsubstanz zu eignen (10, 11).

Durch geeignete technische Massnahmen bei der Wasseraufbereitung durch Chlorierung, wie z. B. vorgängige Ozonisierung, Vor- bzw. Nachbehandlung mit Aktivkohlefiltern, sowie durch die Wahl der Chlorierungsbedingungen, wie z. B. pH-Wert, An- oder Abwesenheit von Ammoniak usw., lassen sich die Gehalte an

[3] Die Konzentrationen von z. B. Chloroform und chlorierten Essigsäuren können je nach Rohwasser und den Chlorierungsbedingungen unter ungünstigen Bedingungen bis zu einigen 100 µg/l betragen (2).

vielen der erwähnten Stoffe in chloriertem Trinkwasser zwar minimieren ebenso wie die Gesamtmutagenität entsprechender Extrakte (2, 9, 10, 12–14), jedoch nicht immer auf einfache Art und Weise, da gegenläufige Einflüsse eine Rolle spielen können (15).

Verschiedene Arbeitsgruppen haben sich seit Jahren mit der Evaluation der widersprüchlichen Daten zu den Effekten von chloriertem Trinkwasser auf die *menschliche Gesundheit* beschäftigt. Eine Auswertung verschiedener, vorwiegend epidemiologischer Studien aus den USA ergab zwar z. B. positive Assoziationen zwischen dem langjährigen Konsum von chloriertem Oberflächenwasser und einem erhöhten Risiko für das Auftreten von Rektum- und insbesondere von Blasenkrebs (16, 17). In gewissen Studien ergaben sich zusätzlich auch schwache Assoziationen zur Darmkrebshäufigkeit (10). Basierend auf der kritischen Auswertung aller epidemiologischen und tierexperimentellen Studien kam dann die Internationale Agentur für Krebsforschung in Lyon (IARC) zum Schluss, dass die Hinweise für eine kanzerogene Wirkung von chloriertem Trinkwasser beim Menschen und auch beim Versuchstier inadequat sind (2). Verschiedentlich wird ebenfalls darauf hingewiesen, dass die eher theoretischen Risiken durch Spuren von genotoxischen Stoffen in chloriertem Trinkwasser den sehr realen mikrobiologischen Risiken bei fehlender, beziehungsweise ungenügender Trinkwasseraufbereitung gegenübergestellt werden müssen (2, 10, 18–20). Trotzdem wird von verschiedenen Seiten im Sinne der Vorsorge empfohlen, Stoffe, die bei In-vitro-Tests eine genotoxische Aktivität zeigen, möglichst aus Trinkwasser fernzuhalten bzw. intensiv daran zu arbeiten, wie diese Forderung technisch erfüllt werden kann (10, 21).

Überlegungen des präventiven Gesundheitsschutzes wie auch solche zur sogenannten «guten Herstellungspraxis» haben dazu geführt, dass die Konzentrationen einzelner Chlorierungsnebenprodukte in Trinkwasser *gesetzlich geregelt* wurden. Infolge ihrer potentiellen Kanzerogenität standen dabei ursprünglich die THM im Vordergrund, speziell Trichlormethan (Chloroform), eine in chloriertem Trinkwasser fast ubiquitär vorkommende Substanz. Im Ames-Test zeigt Chloroform praktisch keine Aktivität. In hohen Dosen (≥100 mg/kg Körpergewicht [KG]/Tag) lebenslang an Nagetiere oral verabreicht, führt es bei Mäusen vorwiegend zu Leber- und bei Ratten zu Nierentumoren (22)[4]. In den USA gilt seit 1979 für die Summe der Konzentrationen der THM (Bromdichlormethan, Dibromchlormethan, Tribrommethan und Trichlormethan) ein Grenzwert von 100 µg/l (im Jahresmittel), in Kanada seit 1978 ein solcher von 350 µg/l, im Sinne eines Maximalwertes (20, 24, 25). In Deutschland gilt demgegenüber für die THM ein Grenzwert von 10 µg/l (zulässiger Fehler ± 5 µg/l). Sind zur Erreichung des Desinfektionszieles vorüber-

[4] Wird von der potentiellen Kanzerogenität des an sich toxikologisch gut untersuchten Chloroforms abgesehen, dürfte der NOEL (no-observable effect level) für den gesunden Menschen etwa 5–10 mg/kg KG/Tag betragen. Bei besonders empfindlichen Personen (Mangelernährung, vorgeschädigte Leber [z. B. Alkohol]) erniedrigt er sich vermutlich auf etwa 1–3 mg/kg KG/Tag (23). Trinkwasser mit 100 µg Chloroform pro Liter führt demgegenüber zu einer täglichen Zufuhr von etwa 3 µg/kg KG/Tag. Dies entspricht einem Sicherheitsfaktor von mindestens 300.

gehend höhere Chlormengen nötig, erhöht sich der THM-Grenzwert auf 25 µg/l (zulässiger Fehler ± 10 µg/l) (26). Von einer WHO-Arbeitsgruppe wurden kürzlich für verschiedene DBP ebenfalls Richtwerte vorgeschlagen, z. B. für die THM Bromdichlormethan 60 µg/l, Dibromchlormethan 100 µg/l, Tribrommethan 100 µg/l und Trichlormethan 200 µg/l. Diese Werte werden toxikologisch begründet, wobei die Summe der Verhältnisse der Konzentration jedes Stoffes zum jeweiligen Richtwert den Wert von 1 nicht übersteigen darf. Die THM-Konzentrationen in chloriertem schweizerischem Trinkwasser betragen schätzungsweise bis zu einigen µg/l, in Ausnahmefällen und während kurzer Zeiten bis zu etwa 30 µg/l[5]. Weitere von der WHO-Arbeitsgruppe u. a. vorgeschlagene, aber als provisorisch bezeichnete Richtwerte sind: Dichloressigsäure 50 µg/l, Trichloressigsäure 100 µg/l, Trichloracetaldehyd (Chloralhydrat) 10 µg/l, Dichloracetonitril 90 µg/l, Dibromacetonitril 100 µg/l und Trichloracetonitril 1 µg/l. Als potentielle Kanzerogene in chloriertem Trinkwasser werden von der WHO-Arbeitsgruppe nur Bromdichlormethan und Trichlormethan eingestuft (18).

Bildung, Verhalten und Vorkommen von MX

Mitte der 80er Jahre erregte eine Substanz Aufmerksamkeit, die je nach Rohwasser im Ames-Test 30–80% zur Gesamtmutagenität von chloriertem Wasser beitrug. Dieser Stoff wurde in der Folge als 3-Chlor-4-(dichlormethyl)-5-hydroxy-2(5H)-furanon (MX) (in saurer Lösung) bzw. in neutraler Lösung (Ringöffnung) als Z-2-Chlor-3-(dichlormethyl)-4-Oxobutensäure identifiziert, erstmals in Abwässern von Zellstoffabriken[6]. Zwischen der cis-Form und der thermodynamisch stabileren trans-Form, auch als *E-MX* bezeichnet, besteht ein Gleichgewicht (Abb. 1). MX gehört zu den Stoffen, die die höchste Aktivität im Ames-Test zeigen, allerdings nur ohne Aktivierung; die Zugabe metabolisierender Enzyme reduziert die mutagene Aktivität drastisch (9, 32).

Die Bildung von MX bei der Chlorierung von huminstoffhaltigem Wasser scheint im allgemeinen durch hohe Huminstoffgehalte (TOC), hohe Chlordosen, tiefe pH-Werte und kurze Kontaktzeiten begünstigt zu sein. Chemische Strukturen vom Typ des 1,2-Dihydroxybenzols wurden als Hauptreaktionspartner von Chlor vorgeschlagen. Die Verwendung des bakteriostatisch wirkenden Chloramins anstelle von Chlor scheint zu tieferen Konzentrationen, eine Ozonbehandlung vor der Chlorierung aber nur zu geringfügigen Konzentrationsreduktionen zu führen.

[5] Die von der WHO-Arbeitsgruppe vorgeschlagenen Werte für die THM sollen in Kürze in die schweizerische Gesetzgebung als Grenzwerte übernommen werden. Der bisherige Wert von 25 µg/l soll als Toleranzwert (Qualitätsziel) beibehalten werden (27).

[6] Chlorfreie Hydroxyfuranone wie 4,5-Dimethyl-3-hydroxy-2 (5H)-furanon (Sotolon), 4-hydroxy-2 (oder 5)-ethyl-5 (oder 2)-methyl-3 (2H)-furanon und 2,5-Dimethyl-4-hydroxy-3 (2H)-furanon haben als natürliche Aromastoffe (28–30) sowie als Zwischenprodukte der Maillard-Reaktion eine Bedeutung (31) .

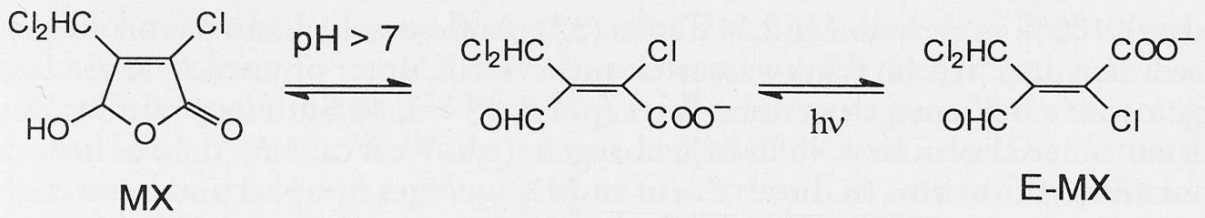

Abb. 1. Strukturen von MX und E-MX

Durch eine vorgängige kombinierte Ozon-/Aktivkohlebehandlung scheinen aber die Vorstufen, die bei der Chlorierung zu MX und anderen im Ames-Test aktiven Stoffen führen, wirksam entfernt zu werden (4, 11, 14, 33–35).

In sauren, wässerigen Lösungen (und in Ethylacetat) ist MX chemisch relativ stabil, nicht jedoch im neutralen und basischen Bereich: Für eine relativ hohe MX-Konzentration von 7,5 mg/l wurde bei pH 2,8 eine Halbwertszeit von 38 Jahren und bei pH 7,8 eine solche von 7,4 Tagen berechnet (36). Andere Autoren geben eine Halbwertszeit von 2,5 Tagen bei pH 6 und von fast 6 Tagen bei pH 8 (37) an. Es scheint, dass bei pH-Werten von mehr als 8 die Zersetzung von MX bedeutungsvoller ist als dessen Isomerisierung zu E-MX, welche insbesondere im pH-Bereich 5–6 abläuft (37). Bei der Zersetzung von MX scheint Chlorid freigesetzt zu werden (36). Bei pH 7,2 reagiert MX auch rasch mit Chlor, aber nur langsam bei pH 3 (38).

Abbildung 2 gibt einen Überblick über das chemische Verhalten und die mutagenen Aktivitäten der verschiedenen Erscheinungsformen von MX in Wasser. In einer finnischen Trinkwasserprobe wurden z. B. folgende Konzentrationen gemessen: MX 13 ng/l, E-MX 20 ng/l, red MX 11 ng/l, ox MX 53 ng/l und ox E-MX 250 ng/l (Anteile an der Mutagenität: 17% MX, 1,5% E-MX und 0,2% red MX) (32).

Bei der Chlorierung wird ebenfalls E-MX gebildet. Es kommt in Trinkwasser in ähnlichen Konzentrationen wie MX vor. Unter dem Einfluss von Licht und bei tiefem pH kann E-MX zu MX isomerisieren (9, 32–34, 39); bei 40 °C und pH 2 zu

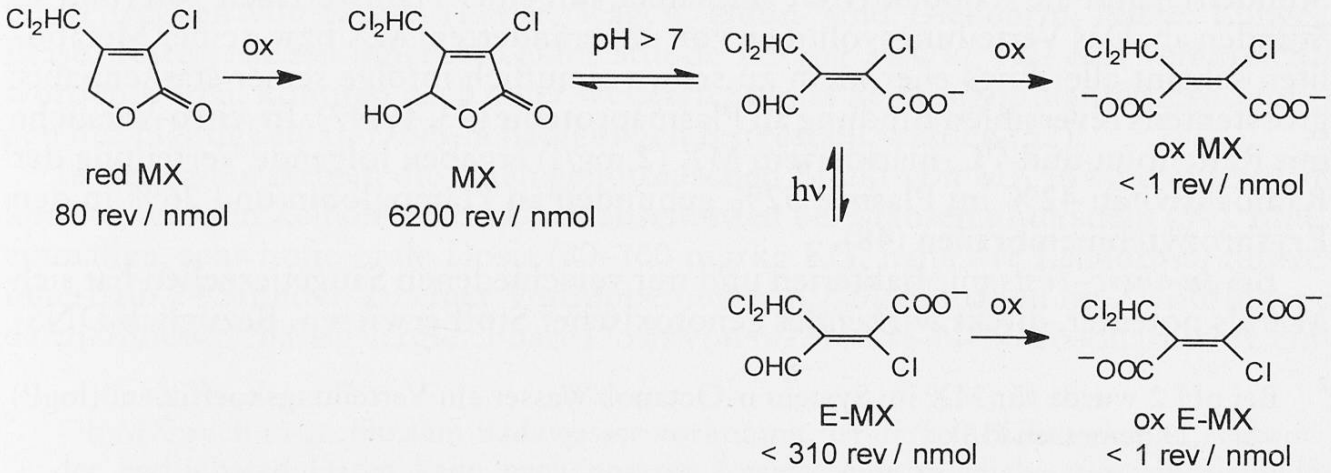

Abb. 2. Strukturen von reduzierten (red) und oxidierten (ox) Analogen von MX und E-MX und ihre Mutagenität (Anzahl Rückmutationen: rev/nmol, 1 nmol MX entspricht ca. 220 ng) im Ames-Test *ohne* Aktivierung (32)

praktisch 100% innerhalb rund 14 Tagen (37). Andererseits kann davon ausgegangen werden, dass MX imTrinkwasserleitungssystem, unter physiologischen Bedingungen sowie bei jenen des Ames-Tests (pH 7, 37 °C, 48 Stunden) mit der Zeit in seine tautomere Form bzw. in E-MX übergeht (pK-Wert ca. 5,3), d. h. es liegt dann in ionisierter Form vor. In dieser Form ist MX weniger lipophil und kann deshalb Zellmembranen weniger gut durchdringen[7]. Im Magen, unter sauren Bedingungen, besteht jedoch theoretisch die Möglichkeit der Rückbildung zu MX.

Bisher konnten in Finnland, den USA, den Niederlanden, Japan und in Grossbritannien Spuren von MX in Trinkwasser nachgewiesen werden. Die gemessenen Konzentrationen liegen, je nach Rohwasser, im Bereich von 2–70 ng/l, wobei der Beitrag von MX zur Gesamtmutagenität bei 5% bis 60%, im Mittel bei etwa 30%, liegt (21, 32, 33, 40, 41). Entsprechende Untersuchungen für schweizerische Verhältnisse sind nicht verfügbar, sind aber im Gange (42)[8].

Toxikologie von MX

Die akute Toxizität (LD-50) wurde bei der Maus auf rund 130 mg/kg KG und bei der Ratte auf 300 mg/kg KG geschätzt (36, 45). Sie ist für die gesundheitliche Bewertung von MX als Spurenstoff in Trinkwasser ohne Bedeutung.

Chronische Tierexperimente (2 Jahre), die üblicherweise als Grundlage für die gesundheitliche Bewertung körperfremder Stoffe in Lebensmitteln dienen, insbesondere im Hinblick auf eine potentielle kanzerogene Wirkung, liegen für MX nicht vor. Auch über den Metabolismus in Säugetieren ist wenig bekannt. Nach einer einmaligen oralen Dosis von ^{14}C-markiertem MX an Ratten (1–40 mg/kg KG) wurden maximal etwa 40% der Radioaktivität relativ rasch absorbiert, wobei innerhalb 24 h 85–90% der aufgenommenen Radioaktivität via Urin zu 100% als unbekannte Metaboliten ausgeschieden wurden. Nach 48 h war im Mittel 1,2% der oral verabreichten Aktivität im Blut enthalten. Nach einem ersten raschen Abfall der Aktivität im Blut nach intravenöser Verabreichung (Halbwertszeit rund 1,5 Stunden) nahm die Radioaktivität langsamer, mit einer Halbwertszeit von rund 42 Stunden ab. Das Verteilungsvolumen von unverändertem MX bzw. seiner Metaboliten scheint allerdings eher klein zu sein, vermutlich infolge seiner starken, aber grösstenteils reversiblen Bindung an Plasmaproteine (43, 46, 47). In-vitro-Versuche mit Rattenblut und ^{14}C-markiertem MX (2 mg/l) ergaben folgende Verteilung der Radioaktivität: 42% im Plasma, 32% gebunden an Hämoglobin und 26% in den Erythrozytenmembranen (48).

Bei *In-vitro-Tests* mit Bakterien und mit verschiedenen Säugetierzellen hat sich MX als potenter, direkt wirkender genotoxischer Stoff erwiesen. Bezüglich DNS-

[7] Bei pH 2 wurde für MX im System n-Octanol/Wasser ein Verteilungskoeffizient (logP) von 1,13 gemessen (36).

[8] Von Dr. F. Baumberger und N. Gurtner, Ingenieurschule Burgdorf, ist MX im Auftrag der Abteilung Lebensmittelwissenschaft des Bundesamtes für Gesundheitswesen kürzlich synthetisiert worden (43, 44).

Strangbrüchen in Human- und Nagetierzellen zeigt MX eine dem Dimethylsulfat vergleichbare Potenz. Wird MX mit Mikrosomen aus der Leber von z. B. Ratten inkubiert (S-9, metabolisierende Enzyme), wird seine mutagene Aktivität drastisch reduziert. Die mutagene Wirkung scheint hauptsächlich mit der Dichlormethylgruppe an C_4, deren cis-Anordnung zum Chlor (an C_3) an der Doppelbindung sowie mit der Aldehydfunktion an C_5 verknüpft zu sein (9, 32, 45, 49, 50).

Bei Fehlen von Langzeit-Kanzerogeneseversuchen wird für die Einstufung der Potenz von genotoxischen Kanzerogenen oft deren kovalentes Bindungspotential an das Erbmaterial (DNS-Addukte, Covalent Binding Index [CBI]) in vivo herangezogen. Zwar ist ein CBI von MX nicht bekannt, in einem Modellversuch mit einem rund 70fachen Überschuss (molare Basis) an MX (pH 7,4, 37 °C, 21 Stunden) konnten aber mittels Flüssigchromatographie keine stabilen MX-Addukte von Deoxyadenosin, Deoxyguanosin, Deoxycytidin und Thymin nachgewiesen werden (51).

Anhand der Resultate von In-vitro-Tests lässt sich das gesundheitsgefährdende Potential von MX für den Menschen nicht quantifizieren. Die bei In-vitro-Tests festgestellte Mutagenität kann einzig dazu dienen, als qualitativer Parameter die Wirksamkeit technischer Massnahmen bei der Trinkwasseraufbereitung zu verfolgen und zu kontrollieren (7, 10).

In den bisher durchgeführten *In-vivo-Mutagenitätstests* erwies sich MX vorwiegend als inaktiv (45, 52). Ein oft verwendeter Test ist dabei der Maus-Mikrokerntest: Dabei wird die Testsubstanz den Versuchstieren verabreicht und anschliessend das Knochenmark der Tiere auf das Auftreten von Fragmenten von Chromosomen untersucht (sog. Mikrokerne). Aufgrund des vorgängig beschriebenen geringen Verteilungsvolumens und der Tatsache, dass MX im Säugetierstoffwechsel inaktiviert wird, dürfte MX kaum in für genotoxische Wirkungen ausreichender Konzentration bis ins Knochenmark gelangen.

Dies könnte die beobachtete fehlende In-vivo-Mutagenität erklären. Als Zielzellen einer möglichen biologischen Wirkung von MX kommen daher insbesondere Zellen des Magen-Darm-Traktes in Frage (Direktkontakt)[9]. Aber auch in Gewebezellen von Ratten (Leber, Magen, Dünn- und Dickdarm, Niere, Lunge, Blase, Testes), denen innerhalb einer Stunde 125 mg MX/kg KG oral verabreicht worden waren, konnten nach einer weiteren Stunde keine signifikanten Erhöhungen der Häufigkeit an DNS-Schädigungen festgestellt werden (52).

In der ersten Arbeit, die einen genotoxischen Effekt von MX in vivo aufzeigen konnte, wurden Zellkerne von Darmabschnitten bei Mäusen untersucht (54). Eine einmalige, sehr hohe orale Dosis (80–100 mg/kg KG, nahe der Letaldosis) führte innerhalb 24 Stunden zu einer Verdoppelung von Zellanomalien im Zwölffingerdarm. Eine molmässig vergleichbare Dosis von N-Methyl-N-Nitrosoharnstoff, ein

[9] Ob MX auch in gechlortem Badewasser vorkommt, ist derzeit nicht bekannt. Anhand der verfügbaren Daten kann nach unserer Ansicht eine mögliche tumorinitiierende Wirkung auf die Haut nicht vollständig ausgeschlossen werden. Dies, obwohl die bisherigen tierexperimentellen Untersuchungen keine statistisch signifikanten Ergebnisse ergaben (53).

bekanntes Kanzerogen des Magen-Darm-Traktes, erhöhte die Häufigkeit dieser Anomalien auf etwa das 50fache: im Vergleich zur mutagenen Aktivität von MX im Ames-Test eine eher geringe Wirkung. Kürzlich wurden genotoxische Effekte auch in peripheren Lymphozyten von männlichen und weiblichen Ratten nachgewiesen, denen während 14–18 Wochen im Mittel rund 20 oder 40 mg/kg KG/Tag oral verabreicht worden waren. Bei der höchsten Dosisgruppe stieg die Anzahl Schwesterchromatidaustausche pro Zelle z. B. von 6,91 ± 0,86 (Kontrollgruppe ± Standardabweichung) auf 12,75 ± 1,32 (55). Auch dies ist in Anbetracht der hohen Dosen und verglichen mit der Aktivität im Ames-Test ein eher bescheidener Effekt. Aus den Daten in dieser Arbeit kann durch lineare Extrapolation geschätzt werden, dass theoretisch eine tägliche Dosis von rund 0,5 mg MX/kg KG zu einer rund 1%igen Erhöhung der entsprechenden natürlichen Häufigkeit führt. Da der Variationskoeffizient der entsprechenden Kontrollgruppe 10–20% beträgt, entspricht dies einem experimentell nicht mehr nachweisbaren Effekt. Im Hinblick auf ein genotoxisches Risiko könnte somit unter Berücksichtigung der Versuchsbedingungen (subchronische Applikation) eine tägliche Dosis von 0,5 mg/kg KG als Dosis betrachtet werden, die im Tierversuch zu keinem statistisch nachweisbaren genetischen Zusatzrisiko führt.

Bewertung und Schlussfolgerungen

Im Sinne des präventiven Gesundheitsschutzes und im Hinblick auf die Reinheit der Lebensmittel entspricht es den heutigen Gepflogenheiten, alle technischen Möglichkeiten zur Verminderung der Konzentrationen an potentiell toxischen Stoffen in Lebensmitteln zu nutzen. Besonders aufmerksam betrachtet werden dabei genotoxische Kanzerogene. Hier wird ein theoretisches Lebenszeit-Todesfallrisiko des Menschen durch einzelne kanzerogene Stoffe anhand tierexperimenteller Daten im hohen Dosisbereich berechnet. Damit lässt sich primär eine Prioritätenzuordnung im Vergleich zu verschiedenen bekannten genotoxischen Kanzerogenen vornehmen. Als vernachlässigbar kleines Risiko wird dabei in der Regel ein zusätzlicher Krebsfall pro Million lebenslang Exponierter diskutiert (Risiko 10^{-6}). Die diesem Risiko theoretisch entsprechende Dosis wird als «virtuell sichere Dosis» (VSD) bezeichnet. Im vorliegenden Falle von MX ist es vorerst nicht möglich, eine VSD zu berechnen, da die entsprechenden In-vivo-Langzeitversuche fehlen[10].

Etwa 90% der Gesamtmutagenität von chloriertem, huminstoffhaltigem Trinkwasser wird nichtflüchtigen, sauer reagierenden Stoffen zugeschrieben, deren Strukturen weitgehend unbekannt sind. Der bekannteste und bis anhin am besten untersuchte Vertreter dieser Stoffklasse ist MX. Die verfügbaren Ergebnisse zu den biologischen Eigenschaften von MX zeigen, dass es bezüglich seiner Aktivität bei In-vitro-Tests an Bakterien- und Säugetierzellen als potentes, direkt wirkendes Mutagen einzustufen ist. Seine genotoxische Aktivität im lebenden Organismus ist wahrscheinlich auf den Gastrointestinaltrakt beschränkt und wegen seiner Inakti-

vierung im Stoffwechsel eher bescheiden. Verschiedene Expertengruppen haben kürzlich MX bzw. chloriertes Trinkwasser im allgemeinen nicht als ein bedeutendes Gesundheitsrisiko eingestuft (2, 10, 56). Im Zusammenhang mit MX vertrat eine britische Expertengruppe die Ansicht, dass keine weiteren toxikologischen Studien mehr nötig seien (56). Eine Expertengruppe der WHO für Trinkwasser hielt andererseits kürzlich fest, dass zu MX zu wenig Unterlagen für die Ableitung eines Richtwertes vorhanden seien (18).

Im allgemeinen ist die Situation bei der Trinkwasserchlorierung in der Schweiz bezüglich der Qualität des Rohwassers, der Aufbereitungsart sowie der Anzahl betroffener Personen eine andere als etwa in den USA oder in Finnland. Wird als Extremfall angenommen, dass in gewissen schweizerischen Trinkwässern MX-Konzentrationen von etwa 20 ng/l vorkommen können, wird für Erwachsene eine maximale tägliche Zufuhr von rund 0,6 ng MX/kg KG berechnet. Dies ist etwa 1 millionmal weniger als jene Dosis, die im Rattenversuch theoretisch zu keinem experimentell feststellbaren genotoxischen Zusatzrisiko führte. Eine tägliche Zufuhr von einigen ng MX pro kg Körpergewicht dürfte somit für den Menschen mit einem vernachlässigbar geringen genotoxischen Zusatzrisiko verknüpft sein.

Wenn auch die gesundheitliche Bedeutung von MX bzw. sein kanzerogenes Potential für den Menschen nicht vollständig geklärt ist, scheint dessen Vorkommen in Trinkwasser in geringen Mengen im Licht der neueren Forschungsresultate weniger bedenklich zu sein als ursprünglich angenommen. Im Hinblick auf den präventiven Gesundheitsschutz und im Sinne einer «guten Herstellungspraxis» sollten trotzdem alle technischen Möglichkeiten genutzt werden, die zur Elimination beziehungsweise Reduktion der Konzentrationen potentiell toxischer Stoffe in Trinkwasser führen.

Zusammenfassung

Bildung, Vorkommen und gesundheitliche Bedeutung von Desinfektionsnebenprodukten (DBP) in chloriertem Trinkwasser werden diskutiert. Ein solches DBP, das 3-Chlor-4(di-

[10] Folgende Beispiele sollen verdeutlichen, dass es aus verschiedenen Gründen nicht immer möglich ist, eine dem Risiko von 10^{-6} entsprechende VSD festzulegen bzw. anzuwenden:
- Enthält das Rohwasser Bromid, kann bei der Ozonisierung, je nach den Reaktionsbedingungen, Bromat gebildet werden. Eine WHO-Arbeitsgruppe hat für Bromat kürzlich einen gesundheitsbezogenen provisorischen Richtwert von 25 µg/l vorgeschlagen, entsprechend einem theoretischen Lebenszeit-Nierentumorrisiko von $7 \cdot 10^{-5}$. Dieser Richtwert basiert auf der derzeitigen analytischen Nachweisgrenze und soll beim Vorliegen einer empfindlicheren Methode gesenkt werden (18).
- Für in Trinkwasser natürlich vorkommendes anorganisches Arsen hat die WHO-Arbeitsgruppe einen gesundheitsbezogenen provisorischen Richtwert von 10 µg/l vorgeschlagen, entsprechend einem theoretischen Lebenszeit-Hautkrebsrisiko von $6 \cdot 10^{-4}$ (18).

Von der WHO-Arbeitsgruppe wird aber auch festgehalten, dass eine kurz andauernde mässige Überschreitung der vorgeschlagenen Richtwerte das Risiko für den Menschen nicht signifikant erhöht (18).

chlormethyl)-5-hydroxy-2(5H)-furanon (MX) gehört zu den im Ames-Test am stärksten wirkenden direkten Mutagenen. Gemäss neueren biologischen Erkenntnissen über die Wirkung von MX scheint dieses in gesundheitlicher Hinsicht weniger bedenklich einzustufen zu sein als ursprünglich angenommen. Eine tägliche Zufuhr von einigen ng MX pro kg Körpergewicht dürfte für den Menschen mit einem vernachlässigbar geringen genotoxischen Zusatzrisiko verknüpft sein. Im Sinne einer «guten Herstellungspraxis» sollten jedoch weiterhin alle technischen Möglichkeiten zur Minimierung der DBP-Konzentrationen in Trinkwasser genutzt werden.

Résumé

Dans le présent travail, la formation, présence et signification pour la santé humaine de sous-produits de désinfection (DBP) dans l'eau de boisson chlorée sont discutées. D'après le test d'Ames, le 3-chloro-4(dichlorométhyle)-5-hydroxy-2(5H)-furanone (MX), un DBP, s'avère comme un des mutagènes les plus actifs. En ce qui concerne l'aspect de la santé, il semblerait selon les récentes connaissances biologiques que le MX soit moins nuisible qu'il n'apparaissait d'abord. Le risque génétique supplémentaire provoqué par un apport quotidien de quelques ng de MX par kg de poids du corps devrait être minime et négligeable pour l'homme. Afin d'assurer une bonne pratique de fabrication, toutes les possibilités techniques devraient néanmoins être mises en valeur avec le but de minimiser les concentrations en DBP de l'eau de boisson.

Summary

The formation, occurrence, and health significance of disinfection by-products (DBP's) in chlorinated drinking water are discussed. One of these DBP's 3-chloro-4(dichloromethyl)-5-hydroxy-2(5H)-furanone (MX) is one of the most active direct acting mutagens in the Ames-test tested so far. However, according to recent results on the biological activity of MX it appears that MX is of lesser health significance than originally assumed. A human daily intake of some ng's of MX per kg body weight seems to pose a negligable additional genotoxic risk. Nevertheless, according to a «good manufactoring practice» continuing efforts should be made, using all technical possibilities to minimize DBP's concentrations in drinking water.

Dank

Herrn Prof. Dr. *Jürg Hoigné* (Eidg. Anstalt für Wasserversorgung, Abwasserreinigung und Gewässerschutz [EAWAG], Dübendorf) danken wir für anregende Diskussionen und die kritische Durchsicht des Manuskripts.

Literatur

1. *Pitsch, T.* und *Kamm, U.:* Statistische Erhebung der Wasserversorgung in der Schweiz. Statistik 1990. Schweizerischer Verein des Gas- und Wasserfaches, Zürich, März 1992.
2. *Anonym:* Chlorinated drinking-water. In WHO/IARC: IARC monographs on the evaluation of carcinogenic risks to humans **52**, 45–141, Lyon 1991.

3. *Cozzi, R., Nicolai, M., Perticone, P. DeSalvia, R.* and *Spuntarelli, F.:* Desmutagenic activity of natural humic acid: inhibition of mitomycin C and maleic hydrazide mutagenicity. Mut. Res. **299,** 37–44 (1993).
4. *Yang, Ch., Niu, C., Bodo, M., Gabriel, E., Notbohm, H., Wolf, E.* and *Müller, P.K.:* Fulvic acid supplementation and selenium deficiency disturb the structural integrity of mouse skeletal tissue. An animal model to study the molecular defects of Kashin-Beck disease. Biochem. J. **289,** 829–835 (1993).
5. *Vartiainen, T.* and *Liimatainen, A.:* Relations between drinking water mutagenicity and water quality parameters. Chemosphere **17,** 189–202 (1988).
6. *Walker, H.S.:* (Kantonales Laboratorium Freiburg): Persönliche Mitteilung, April 1992.
7. *Noot, D.K., Anderson, W.B., Daignault, S.A., Williams, D.T.* and *Huck, P.M.:* Evaluating treatment processes with the Ames mutagenicity assay. J. Amer. Water Works Assoc. **81,** 87–102 (1989).
8. *Meier, J.R.:* Genotoxic activity of organic chemicals in drinking water. Mut. Res. **196,** 211–245 (1988).
9. *Kronberg, L., Christman, R.F., Singh, R.* and *Ball, L.M.:* Identification of oxidized and reduced forms of the strong bacterial mutagen (Z-)-2-chloro-3-(dichloromethyl)-4-oxo-butenoic acid (MX) in extracts of chlorine-treated water. Environ. Sci. Technol. **25,** 99–104 (1991).
10. *Versteegh, J.F.M., Kramers, P.G.N.* and *van Genderen, J.:* Genotoxicity of drinking water – significance and future approach. J. Water SRT – Aqua **39,** 101–106 (1990).
11. *Långvik, V.-A., Hormi, O., Tikkanen, L.* and *Holmbom, B.:* Formation of the mutagen 3-chloro-4-(dichloromethyl)-5-hydroxy-2(5H)-furanone and related compounds by chlorination of phenolic compounds. Chemosphere **22,** 547–555 (1991).
12. *Andrews, R.C., Daignault, S.A., Laverdure, C., Williams, D.T.* and *Huck, P.M.:* Occurrence of the mutagenic compound 'MX' in drinking water and its removal by activated carbon. Environ. Technol. **11,** 685–694 (1990).
13. *Charles, M.J., Chen, G., Kanniganti, R.* and *Marbury, G.D.:* High-resolution mass spectrometry method for the analysis of 3-chloro-4-(dichloromethyl)-5-hydroxy-2(5H)-furanone in waters. Environ. Sci. Technol. **26,** 1030–1035 (1992).
14. *Backlund, P., Wondergem, E., Voogd,* and *de Jong, A.:* Influence of chlorination pH and chlorine dose on the formation of mutagenic activity and on the formation of the strong bacterial mutagen 3-chloro-4-(dichloromethyl)-5-hydroxy-2(5H)-furanone (MX) in water. Chemosphere **18,** 1903-1911 (1989).
15. *Hoigné, J.* and *Bader, H.:* The formation of trichloronitromethane (chloropicrin) and chloroform in a combined ozonisation / chlorination treatment of drinking water. Wat. Res. **22,** 313–319 (1988).
16. *Morris, R.D., Andet, A.M., Angelillo, I.F., Chalmers, T.C.* and *Mosteller, F.:* Chlorination, chlorinated by-products, and cancer: A meta-analysis. Am. J. Public Hlth. **82,** 955–963 (1992).
17. *Cantor, K.P., Hoover, R., Hartge, P., Mason, T.J., Silverman, D.T., Altman, R., Austin, D.F., Child, M.A., Key, C.R., Marrett, L.D., Myers, M.H., Narayana, A.S., Levin, L.I., Sullivan, J.W., Swanson, G.M., Thomas, D.B.* and *West, D.E.:* Bladder cancer, drinking water source, and tap water consumption: a case-control study. J. Natl. Cancer Inst. **79,** 1269–1279 (1987).
18. *Anonym:* Revision of the WHO guidelines for drinking water quality (Document PEP/ICPS/EURO/92.1). WHO, Geneva 1992.

19. *Dayan, A.D.:* Carcinogenicity and drinking water. Pharmacol. Toxicol. 72, Suppl. 1, S108–S115 (1993).
20. *Cotruvo, J.A.:* Evaluating the benefits and potential risks of disinfectants in drinking water treatment. Environ. Hlth. Perspectv. **46,** 1–6 (1982).
21. *Meier, J.R.:* Mutagens in chlorinated water. In: M.L. Mendelsohn, R.J. Albertini (eds.): Mutation and the environment. Part E: Environmental genotoxicity, risk and modulation. In: Progress in Clinical Biology Research, Vol. 340, Part E, pp. 11–19. Wiley-Liss Inc., New York 1990.
22. *Dunnick, J.K.* and *Melnick, R.L.:* Assessment of the carcinogenic potential of chlorinated water: Experimental studies of chlorine, chloramine, and trihalomethanes. J. Natl. Cancer Inst. **85,** 817–822 (1993).
23. *Uehleke, H.:* Zur Toxikologie von Chloroform. Bundesgesundhbl. **21,** 310–317 (1978).
24. *Calabrese, E.J.:* A comparison of how the United States and Canada set drinking water regulations. Regul. Toxicol. Pharmacol. **3,** 417–427 (1983).
25. *Toft, P.:* The control of organics in drinking water in Canada and the United States (standards, legislation and practice). The Sci. Total Environ. **47,** 45–58 (1985).
26. *Anonym:* Verordnung über Trinkwasser und über Wasser für Lebensmittelbetriebe (Trinkwasserverordnung – TrinkwV) vom 12. Dezember 1990 (BGBl., I, S. 2613). In: Aurand, K., Lange-Asschenfeldt, H., Hässelbarth, U. und Steuer, W. (Hrsg.), Die Trinkwasserverordnung, 3., neubearb. Aufl., S. 605–666. Erich Schmidt Verlag, Berlin 1991.
27. *Anonym:* Flüchtige Halogenkohlenwasserstoffe in Trinkwasser. Kreisschreiben Nr. 9 vom 30. August 1993. Bulletin des Bundesamtes für Gesundheitswesen Nr. 37 vom 27.9.1993, S. 659–660.
28. *Mayerl, F., Näf, R.* and *Thomas, A.F.:* 2,5-Dimethyl-4-hydroxy-3(2H)-furanone glucoside: isolation from strawberries and synthesis. Phytochem. **28,** 631–633 (1989).
29. *Martin, B.* and *Etievant, P.:* Quantitative determination of solerone and sotolon in flor sherries by two-dimensional-capillary GC. J. High Resol. Chromat. **14,** 133–135 (1991).
30. *Sasaki, M., Nunomura, N.* and *Matsudo, T.:* Biosynthesis of 4-hydroxy-2(or5)-ethyl-5(or2)-methyl-3(2H)-furanone by yeast. J. Agr. Food Chem. **39,** 934–938 (1991).
31. *Glomb, M., Lederer, M.* and *Ledl, F.:* 5-Hydroxymethyl-3-(2H)-furanone, 5-(1,2-dihydroxyethyl)-3(2H)-furanone and 5-hydroxy-2H-pyran-3(6H)-one: reactive intermediates in the Maillard reaction of hexoses and pentoses. Z. Lebensm. Unters. Forsch. **193,** 237–241 (1991).
32. *Holmbom, B.:* Mutagenic compounds in chlorinated pulp bleaching waters and drinking waters. In: Vainio, H., Sorsa, M. and McMichel, A.J. (eds.), Complex mixtures and cancer risk. IARC Scientific Publication Vol. 104, pp. 333–340, Lyon 1990.
33. *Backlund, P., Kronberg, L.* and *Tikkanen, L.:* Formation of Ames mutagenicity and of the strong bacterial mutagen 3-chloro-4-(dichloromethyl)-5-hydroxy-2(5H)-furanone and other halogenated compounds during disinfection of humic water. Chemosphere **17,** 1329–1336 (1988).
34. *Backlund, P., Wondergem, E., Voogd, K.* and *de Jong, A.:* Mutagen activity and presence of strong mutagen 3-chloro-4-(dichloromethyl)-5-hydroxy-2(5H)-furanone (MX) in chlorinated raw and drinking waters in Netherlands. The Sci. Total Environ. **84,** 273–282 (1989).
35. *Tretyakova, N.Y., Lebedev, A.T., Petrosyan, V.S.* and *Christman, R.F.:* The mechanisms of the formation of MX-like products from aqueous chlorination of dihydroxybenzenes. «Preprinted extended abstract». Presented before the Division of Environmental Chemistry, American Chemical Society, Chicago, August 22–27, 1993, pp. 191–194.

36. *Vartiainen, T., Heishanen* and *Lötjönen, S.:* Analysis and some chemical properties of MX (3-chloro-4-(dichloromethyl)-5-hydroxy-2(5H)-furanone), the potent drinking water mutagen. Z. Anal. Chem. **340,** 230–233 (1991).
37. *Holmbom, B., Kronberg, L.* and *Smeds, A.:* Chemical stability of the mutagens 3-chloro-4-(dichloromethyl)-5-hydroxy-2(5H)-furanone (MX) and E-2-chloro-3-(dichloromethyl)-4-oxo-butenoic acid (E-MX). Chemosphere **18,** 2237–2245 (1989).
38. *Långvik, V.-A., Holmbom, B.* and *Tikkanen, L.:* Reactivity of the mutagen 3-chloro-4-(dichloromethyl)-5-hydroxy-2(5H)-furanone (MX) with chlorine. Chemosphere **23,** 873–880 (1991).
39. *Kronberg, L., Holmbom, B., Rennanen, M.* and *Tikkanen, L.:* Identification and quantitation of the Ames mutagenic compound 3-chloro-4-(dichloromethyl)-5-hydroxy-2(5H)-furanone and its geometric isomer (E)-2-chloro-3-(dichloromethyl)-4-oxobutenoic acid in chlorine-treated humic waters and drinking water extracts. Environ. Sci. Technol. **22,** 1097–1103 (1988).
40. *Suzuki, N.* and *Nakanishi, J.:* The determination of strong mutagen, 3-chloro-4-(dichloromethyl)-5-hydroxy-2(5H)-furanone in drinking water in Japan. Chemosphere **21,** 387–392 (1990).
41. *Kronberg, L.* and *Vartiainen, T.:* Ames mutagenicity and concentration of the strong mutagen 3-chloro-4-(dichloromethyl)-5-hydroxy-2(5H)-furanone and of its geometric isomer E-2-chloro-3-(dichloromethyl)-4-oxobutenoic acid in chlorine-treated tap waters. Mut. Res. **206,** 177–182 (1988).
42. *Jäggli, M.* und *Montorfani, S.* (Kantonales Laboratorium Tessin): Persönliche Mitteilung, 1992 und 1993.
43. *Ringhand, H.P., Kaylor, W.H., Miller, R.G.* and *Kopfler, F.C.:* Synthesis of 3-^{14}C-3-chloro-4-(dichloromethyl)-5-hydroxy-2(5H)-furanone and its use in a tissue distribution study in the rat. Chemosphere **18,** 2229–2236 (1989).
44. *Padmapriya, A.A., Just, G.* and *Lewis, N.G.:* Synthesis of 3-chloro-4-(dichloromethyl)-5-hydroxy-2(5H)-furanone, a potent mutagen. Can. J. Chem. **63,** 828–832 (1985).
45. *Meier, J.R., Blazak, W.F.* and *Knobl, R.B.:* Mutagenic and clastogenic properties of 3-chloro-4-(dichloromethyl)-5-hydroxy-2(5H)-furanone: A potent bacterial mutagen in drinking water. Environ. Mol. Mut. **10,** 411–424 (1987).
46. *Haataja, L., Vartinainen, T., Lampelo, S., Lötjönen, S.* and *Tuomisto, J.:* Binding of the strong bacterial mutagen, 3-chloro-4-(dichloromethyl)-5-hydroxy-2(5H)-furanone (MX) to bovine serum albumin. Toxicol. Lett. **59,** 187–195 (1991).
47. *Komulainen, H., Vaittinen, S.L., Vartiainen, T., Lötjönen, S., Paronen, P.* and *Tuomisto, J.:* Pharmacokinetics in rats of 3-chloro-4-(dichloromethyl)-5-hydroxy-2(5H)-furanone (MX), and drinking water mutagen, after a single dose. Pharmacol. Toxicol. **70,** 424–428 (1992).
48. *Risto, L., Vartiainen, T.* and *Komulainen, H.:* Formation of methemoglobin by 3-chloro-4-(dichloromethyl)-5-hydroxy-2(5H)-furanone, MX, in rat erythrocytes in vitro. Toxicol. Lett. **68,** 325–332 (1993).
49. *La Londe, R.T., Cook, G.P., Perakyla, H.* and *Dence, C.W.:* Effect on mutagenicity of stepwise removal of hydroxyl group and chlorine atoms from 3-chloro-4-(dichloromethyl)-5-hydroxy-2(5H)-furanone: ^{13}C-NMR chemical shifts as determinants of mutagenicity. Chem. Res. Toxicol. **4,** 35–40 (1991).
50. *Chang, L.W., Daniel, F.B.* and *De Angelo, A.B.:* DNA strand breaks induced in cultured human and rodent cells by chlorohydroxyfuranones – mutagens isolated from drinking water. Teratogenesis, Carcinogenesis, Mutagenesis **11,** 103–114 (1991).

51. *Alhonen-Raatesalmi, A.* and *Hemminki, K.:* Assay for nucleoside and nucleotide binding of a potent mutagen, 3-chloro-4-(dichloromethyl)-5-hydroxy-2(5H)-furanone. Toxicol. Lett. **56,** 167–172 (1991).
52. *Brunborg, G., Holme, J.A., Søderlund, E.J., Hongslo, J.K., Vartiainen, T., Lötjönen, S.* and *Becher, G.:* Genotoxic effects of the drinking water mutagen 3-chloro-4-(dichloromethyl)-5-hydroxy-2(5H)-furanone (MX) in mammalian cells in vitro and in rats in vivo. Mut. Res. **260,** 55–64 (1991).
53. *Meier, J.R., De Angelo, A.B., Daniel, F.B., Schenck, K.M., Doerger, J.K., Chang, L.W., Kopfler, F.C., Robinson, M.* and *Ringhand, H.P.:* Genotoxic and carcinogenic properties of chlorinated furanones: important by-products of water chlorination. In: Waters, M., Daniel, F.B., Lewtas, J., Moore, M.M. and Nesnow, S. (eds.), Genetic toxicology of complex mixtures, pp. 185–195, Series of Environmental Science Research, Vol. 39. Plenum Press, New York 1990.
54. *Daniel, F.B., Olson, G.R.* and *Stober, J.A.:* Induction of gastrointestinal tract nuclear anomalies in B6C3F1 mice by 3-chloro-4-(dichloromethyl)-5-hydroxy-2(5H)-furanone and 3,4-(dichloro)-5-hydroxy-2-(5H)-furanone, mutagenic by products of chlorine desinfection. Environ. Mol. Mut. **17,** 32–39 (1991).
55. *Jansson, K., Mäki-Paakkanen, J., Vaittinen, S.L., Vartiainen, T., Komulainen, H.* and *Tuomisto, J.:* Cytogenetic effects of 3-chloro-4-(dichloromethyl)-5-hydroxy-2(5H)-furanone (MX) in rat peripheral lymphocytes in vitro and in vivo. Mut. Res. **229,** 25–28 (1993).
56. *Copestake, P.* (BIBRA): Information section: Committees on toxicity, mutagenicity and carcinogenicity. Fd Chem. Tox. **31,** 315–319 (1993).

Dr. J. Schlatter
Bundesamt für Gesundheitswesen
Abteilung Lebensmittelwissenschaft
c/o Institut für Toxikologie der
ETH und der Universität Zürich
Schorenstrasse 16
CH-8603 Schwerzenbach

Dr. B. Zimmerli
Bundesamt für Gesundheitswesen
Abteilung Lebensmittelwissenschaft
Postfach
CH-3000 Bern 14