

**Die Mutagenisiteit in Drinkwater  
Geproduseer met Verskillende  
Behandelingsmetodes uit Oppervlakwaterbronne**

**B Louw**

**WNK Verslag Nr. 360/1/93**

**DIE MUTAGENISITEIT IN DRINKWATER  
GEPRODUSEER MET VERSKILLEND  
BEHANDELINGSMETODES UIT  
OPPERVLAKWATERBRONNE**

deur

**B. LOUW**

**VERSLAG AAN DIE WATERNAVORSINGSKOMMISSIE**

deur die

**RANDWATERRAAD**

**FEBRUARIE 1993**

**WNK 360/1/93**

**ISBN 1 874858 58 6**

# DANKBETUIGINGS

Hierdie verslag spruit voort uit navorsing wat deur die Waternavorsingskommissie (WNK) gefinansier is.

Die Loodskomitee vir hierdie projek het uit die volgende persone bestaan:

|                   |   |                                                                   |
|-------------------|---|-------------------------------------------------------------------|
| Dr M J Pieterse   | - | Waternavorsingskommissie (Voorsitter)                             |
| Me C M E de Wet   | - | Randwaterraad                                                     |
| Dr R Kfir         | - | Watertek/WNNR                                                     |
| Mnr G Offringa    | - | Waternavorsingskommissie                                          |
| Me A Roux         | - | Departement van Nasionale Gesondheid en<br>Bevolkingsontwikkeling |
| Dr P G van Rossum | - | Universiteit van Pretoria                                         |
| Mnr D Huyser      | - | Waternavorsingskommissie (Sekretaris)                             |

Die finansiering deur die WNK word met dank erken asook die bydraes deur die lede van die loodskomitee.

'n Spesiale woord van dank aan:

Mnr J.C. Geldenhuys, vir sy hulp en ondersteuning in hierdie projek.

Me C M E de Wet vir haar hulp en ondersteuning.

Alta Grundlingh en ander kollegas vir hulp met die praktiese werk.

Die organiese en anorganiese afdelings van die Randwaterraad vir die uitvoering van die chemiese analise.

# INHOUDSOPGAWE

Bladsy

|                                                                                                                              |     |
|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----|
| Bestuursopsomming                                                                                                            | i   |
| Lys van Tabelle                                                                                                              | v   |
| Lys van Figure                                                                                                               | vi  |
| Lys van Diagramme                                                                                                            | vii |
| HOOFSTUK 1      INLEIDING                                                                                                    | 1   |
| 1.1 Literatuurstudie                                                                                                         | 2   |
| 1.1.1 Agtergrond                                                                                                             | 2   |
| 1.1.2 Voorkoms van moontlike mutagene in die natuur en in drinkwater                                                         | 4   |
| 1.1.3 Die verband tussen die vorming van mutagene en waterontsmetting                                                        | 6   |
| 1.1.4 Die verband tussen mutagenisiteit en trihalometaanverbindinge                                                          | 9   |
| 1.1.5 Die verband tussen mutagenisiteit en karsinogenisiteit                                                                 | 12  |
| 1.1.6 Beginsels van die Amestoets                                                                                            | 14  |
| 1.1.7 Toepassings en tekortkominge van die Amestoets                                                                         | 16  |
| HOOFSTUK 2      BEPALING VAN DIE MUTAGENISITEIT IN<br>ROUWATERBRONNE EN WATER UIT VERSKILLEND<br>BEHANDELINGSTADIA (GROEP I) | 17  |
| 2.1 Watermonsters                                                                                                            | 17  |
| 2.2 Eksperimentele ondersoek                                                                                                 | 18  |
| 2.3 Resultate                                                                                                                | 19  |
| 2.3.1 Verwerkte data                                                                                                         | 19  |
| 2.3.2 Grafiese voorstelling                                                                                                  | 20  |
| 2.4 Bespreking                                                                                                               | 21  |
| 2.5 Gevolgtrekking                                                                                                           | 22  |

|            |                                                                                                                                               |    |
|------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| HOOFSTUK 3 | BEPALING VAN MUTAGENISITEIT IN WATER UIT DIE VERDEELSTELSEL TOT WAAR DIT DIE EINDVERBRUIKER BEREIK (GROEP II) . . . . .                       | 23 |
| 3.1        | Watermonsters . . . . .                                                                                                                       | 23 |
| 3.2        | Eksperimentele ondersoek . . . . .                                                                                                            | 24 |
| 3.3        | Resultate . . . . .                                                                                                                           | 25 |
| 3.3.1      | Verwerkte data . . . . .                                                                                                                      | 25 |
| 3.3.2      | Grafiese voorstelling . . . . .                                                                                                               | 26 |
| 3.4        | Bespreking . . . . .                                                                                                                          | 27 |
| 3.5        | Gevolgtrekking . . . . .                                                                                                                      | 28 |
| HOOFSTUK 4 | BEPALING VAN DIE MUTAGENISITEIT IN WATER WAT BEHANDEL IS MET SPESIFIEKE PROSESSE OM NADELIGE CHEMIESE VERBINDINGS TE VERWYDER (GROEP III) . . | 29 |
| 4.1        | Watermonsters . . . . .                                                                                                                       | 29 |
| 4.2        | Eksperimentele ondersoek . . . . .                                                                                                            | 30 |
| 4.3        | Resultate . . . . .                                                                                                                           | 31 |
| 4.3.1      | Verwerkte data . . . . .                                                                                                                      | 31 |
| 4.3.2      | Grafiese voorstelling . . . . .                                                                                                               | 32 |
| 4.4        | Bespreking . . . . .                                                                                                                          | 33 |
| 4.5        | Gevolgtrekking . . . . .                                                                                                                      | 34 |
| HOOFSTUK 5 | GEVOLGTREKKING EN AANBEVELING . . . . .                                                                                                       | 35 |
| 5.1        | Gemeenskaplike gevolgtrekking uit Groep I, II en III . . . . .                                                                                | 35 |
| 5.2        | Aanbeveling . . . . .                                                                                                                         | 36 |
| VERWYSINGS | . . . . .                                                                                                                                     | 37 |
| ADDENDUM A |                                                                                                                                               |    |
| ADDENDUM B |                                                                                                                                               |    |
| ADDENDUM C |                                                                                                                                               |    |

## BESTUURSOPSOMMING

Opperflakwater is die belangrikste bron van drinkwater in Suid-Afrika. Plaaslik word hoofsaaklik gebruik gemaak van konvensionele behandelingsmetodes vir die produksie van drinkwater. Die volgende eenheids-behandelingsprosesse en bedrywe word hoofsaaklik gebruik: voorchlorering (waar van toepassing), koagulering, flokkulering, sedimentasie, filtrasie en finale ontsmetting.

Chloor word wêreldwyd gebruik as primêre ontsmettingsmiddel. Die reaksie van chloor met organiese stowwe teenwoordig in rouwater, is baie bekend. Die chlorering van water kan moontlike chemiese mutagene produseer wat 'n moontlike gesondheidsgevaar skep. Onder sekere toestande reageer vry chloor met geselekteerde voorlopers in drinkwater om trihalometaanverbindings te vorm.

'n Mutageen is 'n chemiese of fisiese middel wat 'n permanente oordraagbare verandering in die genetiese materiaal van 'n sel kan induseer. Dit is bekend dat mutasies een van die oorsake van kanker is en daarom is dit noodsaaklik dat hierdie saak meer aandag geniet. Korttermyn essaiering is nodig vir die bepaling van mutagenisiteit aangesien kroniese blootstelling aan sub-toksiese vlakke van chemiese verbindings baie lank neem om waar te neem. Die bekende Ames *Salmonella*/mikrosom mutagenisiteitstoets word wêreldwyd gebruik vir hierdie doel. Verskeie navorsers het getoon dat van die bekende karsinogene vir die mens, mutagenies is in dié toets. Die toets word ook gebruik om 'n groot verskeidenheid karsinogene, wat metaboliese aktivering benodig, op te spoor. Dit word gedoen deur die byvoeging van homogenaat van rottelewer (S9-mengsel) in die toets. Sekere epidemiologiese studies het 'n waarskynlike verband tussen die gebruik van drinkwater en die voorkoms van blaas, rektale en kolon kanker aangetoon maar geen definitiewe verband kon met sekerheid bevestig word nie.

Mutagene kan as sulks voorkom in rouwater wat besoedel is deur industrieë en landbou (plaagdoders). Dit kan ook gevorm word deur chlorering van water wat humus- en fulviensure bevat. Meeste van die byprodukte wat bestudeer is, is afkomstig van chloor. Behandeling van water met chlooramien, chloordioksied en osoon vorm ook byprodukte met potensiele gesondheidsgevaar maar in 'n mindere mate as chloor. Vanuit die literatuur is dit duidelik dat mutagenisiteit waargeneem kan word in drinkwater wat met chloor ontsmet is.

Die tipe water wat gebruik word vir drinkwaterdoeleindes speel 'n groot rol in die vorming van mutagene. Hoogs besoedelde rouwater toon hoër mutagenisiteit as minder besoedelde water. In die lig van die groot kommer wat ontstaan as gevolg van die vorming van byprodukte tydens die ontsmetting van water met chloor, waar alternatiewe ontsmettingsmiddels soos chloordioksied, osoon, chlooramien en ultraviolet wêreldwyd bestudeer. Daar is gevind dat die hoeveelheid mutagenisiteit wat gevorm word deur die verskillende ontsmettingsmiddels, gewoonlik die volgende relatiewe volgorde volg: osoon < chloordioksied < chlooramien < chloor. Osoon kan egter in sommige gevalle net so 'n hoë vlak van mutagenisiteit tot gevolg hê as chloor. Verskeie metodes is bekend om organiese voorlopers wat tot die vorming van

mutagene kan lei, te verwyder. Prosesse soos belugting, snelsandfiltrasie en koagulasie verwyder 'n gedeelte terwyl die doeltreffendste metode adsorpsie op geaktiveerde koolstof is. Die koolstof kan egter uitgeput raak en dan kan deurbraak van voorlopers tog voorkom.

Die Randwaterraad verskaf drinkwater aan meer as agt miljoen mense en dit is noodsaaklik dat die water geen gesondheidsnadelige verbindings bevat nie. As gevolg van die feit dat die Raad besoedelde oppervlaktewater behandel en chloor as 'n vooroksidant vir die bekamping van algekonsentrasies en as primêre ontsmetmiddel gebruik word, vergroot die moontlikheid dat gesondheidsnadelige verbindings dalk mag voorkom.

Die doel van hierdie navorsing was om ondersoek in te stel na die voorkoms van mutagene in drinkwater soos geproduseer deur die Randwaterraad met die toepassing van die Ames *Salmonella*/mikroskoop toets. Met die ondersoek sou dit moontlik wees om te bepaal watter tipe mutagene, soos aangedui deur die reaksie van die verskillende toetsrasse, teenwoordig is. Verder sou dit moontlik wees om te bepaal op watter stadium van die behandelingsproses die mutagene gevorm word en of daar 'n toename is in die mutagenisiteit in die verdeelstelsel nadat die water die suiweringsaanleg verlaat het. Spesifieke behandelingsprosesse soos geaktiveerde koolstof, chloordioksied en chlooramien is ondersoek. Totale trihalometaan (TTHM) bepaling is in parallel met elke toets gedoen om te sien of daar 'n moontlike verband bestaan tussen TTHM-konsentrasie en mutagenisiteit.

Die ondersoek is in drie groepe verdeel:

- |           |   |                                                                                           |
|-----------|---|-------------------------------------------------------------------------------------------|
| Groep I   | - | rouwater en water vanuit verskillende behandelingstadia.                                  |
| Groep II  | - | water vanuit die verdeelstelsel tot waar dit die eindverbruiker bereik.                   |
| Groep III | - | water behandel met spesifieke prosesse om nadelige verbindings te verwyder of te verlaag. |

Die volgende waarnemings is vanuit die drie groepe gemaak:

Daar is geen mutagenisiteit waargeneem in die rouwater of in die water vanuit die verskillende behandelingstadia nie. Mutagenisiteit is wel waargeneem in water direk na breekpuntchlorering.

Mutagenisiteit is ook waargeneem in water vanuit die verdeelstelsel tot by die eindverbruiker. Hierdie mutagenisiteit het stelselmatig toegeneem. Geen verskil in die mutagenisiteit voor en na chlooraminering is waargeneem nie.

Die mutagenisiteit wat voorgekom het in chloor behandelde water is verwyder deur geaktiveerde koolstof (GAC) behandeling. In die geval waar die koolstof uitgeput was, is laer mutagenisiteit wel waargeneem in die geval waar GAC behandelde water met chloor behandel is. Geen mutagenisiteit is waargeneem in water wat met chloordioksied of chlooramien behandel is nie.

Die S9-mengsel het in al die gevalle waar mutagenisiteit waargeneem is, die reaksie verswak of vernietig.

In al die resultate uit die drie groepe het die TTHM-konsentrasies en die waargenome mutagenisiteit 'n verband getoon. Met die toename in die mutagenisiteit het 'n toename in die TTHM-konsentrasies voorgekom. Die ontsmetting van water met chloordioksied of chlooramien het geen THM-verbindings gevorm nie terwyl in die geval van chloor dit gevorm word.

Die gevolgtrekkings uit die resultate is soos volg:

Mutagenisiteit kom voor in water wat gechlloreer is. Dit is ook duidelik dat THM-verbindings gevorm word tydens die chlorering van water. Daar is 'n aanduiding van 'n moontlike verband tussen die TTHM-konsentrasie en mutagenisiteit.

Mutagenisiteit het stelselmatig toegeneem in die verdeelstelsel, moontlik as gevolg van die kontaktyd tussen die water en die chloor.

Die GAC behandeling van water is doeltreffend vir die verwydering van organiese voorlopers. Chlooramien en chloordioksied kan gebruik word as alternatiewe ontsmettingsmiddels aangesien dit nie THM-verbindings vorm nie en geen mutagenisiteit waargeneem is nie.

Die waargenome mutagenisiteit is van so 'n lae orde dat dit geen gesondheidsrisiko is nie. Aangesien die S9-mengsel in al die gevalle die mutagenisiteit verswak of vernietig het, dui dit daarop dat die lewerensiemer teenwoordig in die menslike liggaam, die mutagenisiteit van moontlike mutagene verswak of vernietig. Die waargenome TTHM-konsentrasies was ook laer as die aanbevole grens van 100 µg/l. Daar kan dus aanvaar word dat die drinkwater, soos verskaf deur die Randwaterraad, op hierdie stadium geen gesondheidsgevaar vir die mens inhou nie.

Die volgende aanbevelings word gedoen:

- Die Amestoets moet slegs as 'n uitsiftingstoets gebruik word. Nadat mutagenisiteit waargeneem is met die Amestoets, behoort die mutagene geïsoleer en geïdentifiseer word. Hierdie stowwe moet dan *in vivo* getoets word en bevestig word as karsinogene.
- Die verband tussen die THM-verbindings en die waargenome mutagenisiteit dui daarop dat die verwydering of verlaging van die verbindings of die voorlopers, die probleem van mutagenisiteit kan oplos.

- Die gebruik van osoon om mutagenisiteit te voorkom moet ondersoek word.
- Totale organiese halogene (TOX) bestaan uit vlugtige stowwe (THM-verbindings en ander) en nie-vlugtige stowwe. Hierdie nie-vlugtige stowwe beslaan 'n groot gedeelte van die TOX-verbindings. Daar moet dus ook ondersoek ingestel word na die verband tussen mutagenisiteit en die TOX-verbindings.

## LYS VAN TABELLE

|           | Bladsy                                                                                                                     |
|-----------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Tabel 1.1 | Trihalometaan-konsentrasies ( $\mu\text{g/l}$ ) . . . . . 1                                                                |
| Tabel 1.2 | Opsomming van vier studies in <i>Salmonella</i> met organiese chemiese karsinogene en nie-karsinogene . . . . . 13         |
| Tabel 2.1 | Vergelyking tussen die mutagenisiteit in ekstrakte gemaak op verskillende XAD harse uit dieselfde water . . . . . 18       |
| Tabel 2.2 | Bepaling van die mutagenisiteit in rouwater en water uit verskillende behandelingstadia . . . . . 19                       |
| Tabel 3.1 | Bepaling van die mutagenisiteit in water uit die verdeelstelsel tot by die eindverbruiker . . . . . 24                     |
| Tabel 3.2 | Vergelyking van die mutagenisiteit in ontchloorde water en water wat chloor bevat . . . . . 24                             |
| Tabel 4.1 | Bepaling van die mutagenisiteit in water behandel met onderskeidelik GAC, chloor, chloordioksied en chlooramien . . . . 30 |

## LYS VAN FIGURE

Bladsy

|            |                                                                                                                                                                                                         |    |
|------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| Figuur 2.1 | Dosis verwante reaksie verkry met TA100 met ekstrak uit water direk na breekpuntchlorering . . . . .                                                                                                    | 20 |
| Figuur 2.2 | Verband tussen TTHM-konsentrasie en mutagenisiteit en 'n vergelyking tussen die determinand konsentrasies in verskillende watermonsters uit Groep I, getoets met die toetsras TA100 sonder S9 . . . . . | 20 |
| Figuur 2.3 | Korrelasie tussen die TTHM-konsentrasie en die mutasietempo vir TA100 sonder S9 . . . . .                                                                                                               | 21 |
| Figuur 3.1 | Dosis verwante reaksie verkry met TA98 met die ekstrak van water vanaf Rustenburg . . . . .                                                                                                             | 25 |
| Figuur 3.2 | Verband tussen TTHM-konsentrasie en mutagenisiteit en 'n vergelyking tussen die determinand konsentrasie in verskillende watermonsters uit Groep II, getoets met toetsras TA98 sonder S9 . . . . .      | 25 |
| Figuur 3.3 | Korrelasie tussen die TTHM-konsentrasie en die mutasietempo vir TA98 sonder S9 . . . . .                                                                                                                | 26 |
| Figuur 4.1 | Persentasie verwydering van organiese stowwe deur die die koolstofkolomme, gemeet aan UV-absorbansie . . . . .                                                                                          | 29 |
| Figuur 4.2 | Dosis verwante reaksie verkry met TA100 met die ekstrak uit water voor GAC na die byvoeging van chloor . . . . .                                                                                        | 31 |
| Figuur 4.3 | Die verband tussen TTHM-konsentrasie en mutagenisiteit in water behandel met GAC en verskillende chloordoserings, getoets met die toetsras TA100 sonder S9 . . . . .                                    | 31 |
| Figuur 4.4 | Die verband tussen TTHM-konsentrasie en mutagenisiteit in water behandel met verskillende ontsmettingsmiddels . . . . .                                                                                 | 32 |
| Figuur 4.5 | Korrelasie tussen die TTHM-konsentrasie en die mutasietempo vir TA100 sonder S9 . . . . .                                                                                                               | 32 |

## LYS VAN DIAGRAMME

|                                                                                                               | Bladsy |
|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------|--------|
| Diagram 2.1 Skematiese voorstelling van die suiweringsaanleg en<br>posisie van die monsterpunte . . . . .     | 17     |
| Diagram 3.2 Skematiese voorstelling van die verdeelstelsel en<br>posisie van die monsterpunte . . . . .       | 22     |
| Diagram 3.1 Skematiese voorstelling van die Randwaterraad se<br>verskaffingsgebied . . . . .                  | 23     |
| Diagram 4.1 Skematiese voorstelling van die Barrage suiweringsaanleg<br>en posisie van monsterpunte . . . . . | 29     |

# HOOFSTUK 1

## INLEIDING

'n Mutageen is 'n chemiese of fisiese middel wat 'n permanente oordraagbare verandering in die genetiese materiaal van 'n sel kan induseer (Van Rossum, Govender en Meintjies, 73, p.1). Volgens Zimmermann en Taylor-Mayer (77, p.25) neem besoedeling van die omgewing met mutagene geweldig toe. Eers in die middel sestiger jare is bewus geraak van die groot hoeveelheid mutagene wat in die omgewing teenwoordig is. Meeste is produkte van die chemiese industrieë wat gebruik word as geneeskundige middels, preserveermiddels en insekdoders asook skoonheidsmiddels en produkte soos plastiek, gomme en verf.

Dit is bekend dat mutasies een van die hoof oorsake van kanker is en daarom is dit noodsaaklik dat hierdie saak meer aandag geniet (Zimmermann en Taylor-Mayer, 77, p.25). Met die uitsondering van by-produkte wat vorm as gevolg van behandeling is water nie die belangrikste faktor waardeur die mens aan mutagenisiteit blootgestel word nie. Blootstelling aan voedsel, lug, beroepsaktiwiteite en lewenstylfaktore, soos rook, moet ook in berekening gebring word. Rookkondensate van sigarette het mutagenisiteit getoon en daar is al bewys dat dit karsinogenies is vir die mens (Kier, 31, p.4159). Water en lug is die hoof lewensbronne nodig vir voortbestaan. Dit is dus uiters noodsaaklik dat hierdie bronne geen gesondheidsgevaar inhou nie aangesien die mens geen ander keuse het as om dit te gebruik nie.

Die Randwaterraad verskaf drinkwater aan meer as agt miljoen mense en dit is noodsaaklik dat die water geen moontlike gesondheidsnadelige verbindings bevat nie. Uit die literatuur is dit duidelik dat in die vorming van mutagenisiteit in drinkwater, die volgende 'n rol kan speel: die chemiese samestelling van die rouwater, metaboliete afkomstig van mikro-organismes, alge, en die spesifieke behandelingsmetode, veral die tipe ontsmetmiddel wat gebruik word. Tot dusver was daar in die Republiek van Suid-Afrika nog geen omvattende ondersoek na die voorkoms van mutagene stowwe in drinkwater nie. Klein geïsoleerde ondersoeke is reeds gedoen (Grabow, Van Rossum, Grabow en Denkhaus, 28, p.1037; Van Rossum, Willemse, Hilner en Alexander, 74, p.163) en baie data oor die gehalte van herwonne water, soos geproduseer by Windhoek, Namibië, is beskikbaar (Denkhaus, Grabow en Prozesky, 21, p.571).

As gevolg van die feit dat die Raad besoedelde oppervlakwater behandel en dat chloor as 'n vooroksidant vir die bekamping van algkonsentrasies en as primêre ontsmettingsmiddel gebruik word, vergroot die moontlikheid dat gesondheidsnadelige verbindings, in die vorm van gehalogeneerde koolwaterstofverbindings (TTHM), wel mag voorkom. Gereelde bepalinge vir die voorkoms van die verbindings in water afkomstig van die Raad se behandelings- en verspreidingsstelsels word as roetine gedoen. In Tabel 1.1 word die trihalometaan-konsentrasies in water uit die verdeelstelsel oor 'n tydperk van 5 jaar, aangedui.

**Tabel 1.1 Trihalometaan konsentrasies( $\mu\text{g/l}$ )**

| Jaar eindig | Minimum | Maksimum | Gemiddeld | Aantal analyses |
|-------------|---------|----------|-----------|-----------------|
| Maart 1988  | 9       | 97       | 45        | 511             |
| Maart 1989  | 7       | 101      | 57        | 494             |
| Maart 1990  | 9       | 147      | 64        | 627             |
| Maart 1991  | 14      | 114      | 52        | 679             |
| Maart 1992  | 2       | 94       | 45        | 801             |

Geen noemenswaardige toename in die TTHM konsentrasie kom voor nie en die variasie in resultate kan toegeskryf word aan rouwater van wisselende gehalte wat behandel is.

Die doel van hierdie navorsing was om ondersoek in te stel na die voorkoms van mutagene stowwe in drinkwater geproduseer deur die Randwaterraad met die toepassing van die Ames *Salmonella* mikrosom mutagenisiteitsbepaling. Met die ondersoek sou dit moontlik wees om te bepaal watter tipe mutagene, soos aangedui deur die reaksie van die verskillende toetsrasse, teenwoordig is. Verder sal dit moontlik wees om te bepaal op watter stadium van die behandelingsproses die mutagene gevorm word en of daar 'n toename is in mutagenisiteit in die verdeelstelsel nadat die water die suiweringsaanleg verlaat het. Schwartz, Saxena en Kopfler (65, p.1140) het 'n toename in die mutagenisiteit van behandelde water deur die verspreidingsnetwerk waargeneem.

## **1.1 LITERATUURSTUDIE**

### **1.1.1 AGTERGROND**

Oppervlakwater is die belangrikste bron van drinkwater in Suid-Afrika. In die verlede is baie siektes oorgedra deur hierdie water. Soos metodes van watersuiwering oor die jare verbeter het, het die voorkoms van wateroordraagbare siektes afgeneem. Stadige sandfiltrasie is eerste in 1889 toegepas en snelsandfiltrasie in 1893 waarna die uitbrake van ingewandskoors afgeneem het. Die eerste kontinue byvoeging van chloor vir die ontsmetting van munisipale water is in 1908 in die Verenigde Koninkryk (VK) toegepas. Natriumhipochloriet was aanvanklik gebruik en later in 1912 is kommersiële toerusting ontwikkel om chloorgas as ontsmetmiddel in water te gebruik. Uitbrake van die siektes het nog voorgekom in die geval van

gekontamineerde onbehandelde water of in die geval waar water onvoldoende behandel is. Voldoende kontinue ontsmetting is noodsaaklik vir die voorkoming van wateroordraagbare siektes (Craun, 18, p. 40).

In Suid Afrika word hoofsaaklik gebruik gemaak van konvensionele behandelingsmetodes vir die produksie van drinkwater. Hierdie metodes verwyder hoofsaaklik gesuspendeerde materiaal en skadelike mikro-organismes. Die volgende eenheidsbehandelingsprosesse en bedrywe word normaalweg gebruik: voorchlorering (ter wille van oksidasie waar ter sprake), koagulering, flokkulering, sedimentasie, filtrasie en finale ontsmetting (hoofsaaklik chlorering). As gevolg van die toename van industrieë en intensiewe landboubeoefening is daar 'n toename in die besoedeling van oppervlakwater sowel as grondwater met organiese en anorganiese stowwe. Nuwe gesondheidsprobleme ontstaan as gevolg van die vrystelling van potensiële toksiese stowwe in die omgewing. Dit is noodsaaklik dat dit beheer word om sodoende die drinkwaterbronne te beskerm (Evers, 23, p. 3). Beskerming van watergehalte en dan ook die beskerming van die verbruiker in terme van die gesondheidsrisiko wat die verbruik van water inhou, is nodig. Die volgende faktore speel hier 'n rol:

- Direkte gebruik van gekontamineerde drinkwater
- Dermale kontak met geprosesseerde water
- Oormatige blootstelling aan kontaminante deur inaseming van vlugtige stowwe deur verdamping vanaf water na die atmosfeer
- Inaseming van vlugtige stowwe tydens swem, stort, bad en ander huishoudelike gebruike van water
- Residue wat akkumuleer in visse en later in voedsel gebruik word

Bronne van organiese besoedeling is natuurlike produkte, by-produkte wat gevorm word tydens behandeling en ook besoedeling afkomstig vanaf industriële afvalwater (Cotruvo, 16, p. 8-9).

Standaard vir drinkwater is daar gestel vir beide gesondheidsverwante determinande en faktore wat die estetiese gehalte van water beïnvloed. Die potensieel gevaarlike stowwe is geselekteer vanuit 'n groot aantal bekendes wat in water mag voorkom en die seleksie is gebaseer op 'n aantal faktore (Toft, 70, p.49):

- Relatief hoë frekwensie van voorkoms in drinkwater
- Voorkoms in relatief hoë konsentrasies
- Bewys dat stowwe ongunstige effekte kan veroorsaak
- Strukturele ooreenkomste met dié van bekende toksiese chemikalieë

Chloor word wêreldwyd gebruik as primêre ontsmettingsmiddel. Die reaksie van chloor met organiese stowwe teenwoordig in rouwater is al vir baie jare bekend. Die chlorering van water kan moontlike chemiese mutagene produseer wat 'n moontlike gesondheidsgevaar skep (Fielding en Horth, 24, p.103). Onder sekere toestande reageer vry chloor met geselekteerde voorlopers in drinkwater om halogeenverbindings wat bekend staan as trihalometaanverbindings (THM) te vorm. Sommige van die THM-verbindings hou 'n potensiële gesondheidsrisiko in en die konsentrasie moet dus binne perke gehou word. Dit is egter ook belangrik dat daar op 'n gebalanseerde en verantwoordelike wyse na hierdie verbindings gekyk moet word en dat doeltreffende ontsmetting nie opgeoffer word ter wille van 'n verlaagde THM-konsentrasie nie (Pieterse, 58, p.169). THM-verbindings verteenwoordig slegs 'n klein gedeelte van die chemiese by-produkte wat geproduseer word tydens chlorering. Identifisering van hierdie produkte is in baie gevalle moeilik as gevolg van strukturele, stabiliteits- en oplosbaarheidsfaktore (Cotruvo, 15, p.268).

Daar is ook onlangs deur Scully en White (66, p.820) gevind dat met die inneem van water wat met reaktiewe oksidante ontsmet is, chemiese reaksies kan plaasvind met verbindings in die speeksel, voedsel en maagsappe. Gesondheidsnadelige effekte is nie as gevolg van die oksidante self nie, maar moontlik as gevolg van produkte wat gevorm is uit reaksies met organiese en anorganiese verbindings teenwoordig in die speeksel en maagsappe. Baie min is nog hieroor bekend.

### **1.1.2 VOORKOMS VAN MOONTLIKE MUTAGENE IN DIE NATUUR EN IN DRINKWATER**

Die organiese verbindings wat die algemeenste in die rouwater voorkom is humus- of fulviensure. Hierdie is by-produkte as gevolg van ontbinding byvoorbeeld tannien, terpien, aminosure en proteïene en 'n verskeidenheid van ander stikstof en swaelbevattende stowwe. Hierdie produkte is baie kompleks en as gevolg van wateroplosbaarheid en die groot verskeidenheid waarin dit voorkom word dit nie individueel geïdentifiseer nie. Dit kan dan wel gemeet word as totale organiese koolstof (TOC), totale organiese stikstof (TON), kleur en absorpsie by verskillende golflengtes (Cotruvo, 16, p.9).

Afhangende van die bron mag organiese stowwe in drinkwater bestaan uit natuurlike en sintetiese verbindings (Loper, 42, p.243). Die natuurlike verbindings vorm die hoofgedeelte en bestaan uit humus- en fulviensure. Die sintetiese verbindings wat water bereik, sluit in verbindings bygevoeg as onsuiverhede van chloor, soos koolstoftetrachloried, en die wat ontstaan as gevolg van waterchlorering (Rook, 62, p.236). Laasgenoemde is mengsels van vlugtige en nie-vlugtige organiese stowwe. Die bekendste produk van chlorering is die trihalometaanverbindings - hoofsaaklik die wat chloor en/of broom bevat. Volgens Loper (42, p.243) kan slegs 'n klein persentasie (10%) van die vlugtige stowwe geïdentifiseer en gekwantifiseer word, maar die isolasie en identifisering van oorblywende stowwe is baie moeiliker. Die chemiese verbindings wat verantwoordelik is vir mutagenisiteit kan in twee kategorieë verdeel word.

- 1) Verbindings met lae oplosbaarheid en met 'n vlugtigheid wat voldoende is vir vinnige skeiding en identifisering met gaschromatografie en massaspektrometrie.
- 2) Relatief oplosbare verbindings met lae vlugtigheid wat nie dadelik deur middel van die metodes geskei kan word nie maar slegs geïsoleer kan word deur ekstraksie of konsentrering vanuit water as komplekse mengsels.

Wanneer die water gekonsentreer word, bemoeilik die volgende faktore die ekstraksie van mutagene: die herhaalbaarheid, variasie van die verbindings in die water, die groot hoeveelheid water nodig om voldoende konsentraat te lewer en die sitotoksiteit daarvan (Versteegh, Kramers en Van Genderen, 75, p.102). Daarom is dit eenvoudiger om gebruik te maak van kommersiële verbindings om die effek van chloorbehandeling in water te bepaal. Mutagene kan ook gevorm word deur die chlorering van kommersiële humussure (Kringstad, Ljungquist, De Sousa en Strömberg, 37 p.553). Hierdie studie het getoon dat lae konsentrasies mutagene vorm met die chlorering van humussure. Vanuit die resultate kan afgelei word dat die verbindings kan bydra tot die mutagenisiteit van drinkwater. Min inligting omtrent fulviensure en die invloed daarvan as voorlopers op mutagenisiteit is bekend. Om hierdie rede het Horth (30, p.84) 'n studie gedoen waar humus en fulviensure gechlloreer en gekonsentreer is en die mutagenisiteit vergelyk is. Oor die algemeen het albei min of meer dieselfde vlak van aktiwiteit getoon wat beteken dat humus sowel as fulviensure 'n betekenisvolle bydrae tot die mutagenisiteit wat voorkom lewer. Aangesien fulviensure in hoër konsentrasies voorkom in water as humussure is dit belangriker as voorlopers vir mutagenisiteit in gechlloreerde drinkwater. Rook (63, p.478) het ook bewys dat by-produkte gevorm word tydens die chlorering van fulviensure.

Volgens Cotruvo (16, p.10) is die meeste by-produkte wat bestudeer is, afkomstig vanaf chloorbehandeling. Behandeling van water met chlooramien, chloordioksied en osoon vorm ook reaktiewe produkte maar in 'n mindere mate as chloor. Voorbeelde van produkte wat hier gevorm word, is chloroform en ander trihalometane, gechlloreerde en gebromeerde asetonitriële, chloorpikrien, gehalogeneerde fenole (produseer ongunstige reuke en smake), aldehyde en ketone. Mutagenisiteit kan ook die oorsaak wees van die kontaminasie van water met industriële afvalwater. Groot hoeveelhede halogeneerde koolwaterstofoplosmiddels, aërosoldryfmiddels en verkoelingsmiddels wat wêreldwyd geproduseer word, kan hiertoe bydra. Plaagdoders kan ook 'n rol speel. Dit kan oppervlakwater bereik deur aflope, verspreiding deur reënval en besproeiingswater. Die wegdoening van chemiese afvalstowwe in industriële gebiede is veral 'n probleem in die geval van die besoedeling van grondwater.

Rappaport, Richard, Hollstein en Talcott (60, p.957) het 'n vergelykende studie gedoen op behandelde huishoudelike afvalwater en behandelde huishoudelike afvalwater gekontamineer met industriële afval. Mutagenisiteit is verkry in die laaste geval terwyl in behandelde huishoudelike water negatiewe resultate verkry is. Hierdie resultate dui ook daarop dat industriële bronne tog verantwoordelik was vir die waargenome mutagenisiteit.

In verskeie lande is mutagenisiteit waargeneem in drinkwater. Kool (32, p.34) het 'n studie gedoen op die mutagenisiteit in drinkwater in Nederland. Hier is oppervlakwater van die Ryn- en Meuseriviere, behalwe grondwater, die twee hoofbronne vir drinkwatervoorsiening. Agtien dorpe (twintig drinkwatertipes) is gebruik in hierdie ondersoek, waar gebruik gemaak word van oppervlak- sowel as grondwater. In tagtig persent van die gevalle waar oppervlakwater, of 'n mengsel van oppervlak en grondwater gebruik is, het mutagenisiteit voorgekom teenoor die veertig persent van die gevalle waar grondwater gebruik is. Spesifieke drinkwater behandelingsprosesse (onder andere duin-filtrasie) is in staat om organiese voorlopers tot mutagene en mutagene in 'n groot mate te verwyder uit besoedelde rouwater. 'n Voorbeeld hiervan is die produksie van mutageenvrye water uit die Meuserivier.

Rouwater as sulks kan mutagenies wees (Slooff en van Kreijl, 68; Van Hoof, 71). Drinkwater vanaf São Paulo in Brazilië het ook mutagenisiteit getoon in rouwater maar aktiwiteit was baie hoër in water wat gechlloreer is (Sanchez, Coimbrão, Coelho, Valent en Sato, 64, p.146). Grabow *et al.* (28, p.1039) het geen mutagenisiteit waargeneem in rouwater vanaf die Vaalrivier nie, maar wel in water wat behandel is met aluin flokkulasie, sedimentasie, sandfiltrasie en chlorering.

### 1.1.3 VERBAND TUSSEN DIE VORMING VAN MUTAGENE EN WATERONTSMETTING

Chloor word wêreldwyd as ontsmetmiddel vir drinkwater doeleindes gebruik. Die reaksies wat tussen chloor en die organiese stowwe teenwoordig in die rouwater plaasvind, is algemeen bekend. Noot, Anderson, Daignault, Williams en Huck (55, p.90) het 'n wêreldwye vergelykende studie gedoen met betrekking tot die evaluering van verskillende behandelingsprosesse vir drinkwater doeleindes. Meeste mutageniese verbindings wat gevorm word gedurende chlorering is nie-polêr en daarom word dit gevind in die neutrale fraksie. Nieteenstaande die baie aandag wat aan die suurfraksieverbinding MX (3-chloro-4 [dichlorometiel]-5-hidroksie-2[5H]-furanon) gegee is, is daar gevind dat daar betekenisvolle mutagenisiteit ook in die neutrale fraksie waargeneem kon word. In die geval van oppervlak- en drinkwater in Nederland is mutagene hoofsaaklik onder suurtoestande geëkstraheer. Daarom kan dit aangeneem word dat dit moontlike organiese sure kan wees (Backlund, Wondergem, Voogd en De Jong, 7, p.281). Verskeie studies het getoon dat daar 'n duidelike toename is in die mutagenisiteit in water nadat dit gechlloreer is (Fielding en Horth, 24, p.109; Maruoka en Yamanaka, 46, p.385; Kool, 32, p.27).

Die tipe water wat gebruik word vir drinkwaterdoeleindes speel 'n groot rol in die vorming van mutagene en mutagenisiteit. Rouwaterbronne wat besoedel is met industriële-, munisipale en landbou-afval en met chloor behandel is toon hoë mutagenisiteit terwyl grondwater wat nie besoedel is geen mutagenisiteit getoon het na chlorering nie (Maruoka en Yamanaka, 46, p.383-384).

Met hierdie studie is daar ook mutagenisiteit gevind in rourivierwater wat besoedel is met industriële sowel as huishoudelike afval terwyl geen mutagenisiteit gevind is in water vanaf 'n meer wat besoedel is met slegs huishoudelike afval nie. In 'n studie deur Kool, Van Kreijl, De Greef en Van Kranen (36, p.212) het die hoogste mutagenisiteit voorgekom na breekpuntchlorering.

As gevolg van die groot kommer wat ontstaan in die lig van die vorming van byprodukte tydens ontsmetting met chloor is alternatiewe ontsmettingsmiddels soos chloordioksied, osoon, chlooramien en ultraviolet lig bestudeer. Verskeie vergelykende studies op dié verskillende ontsmettingsmiddels is al uitgevoer (Zoeteman, Hrubec, De Greef en Kool, 78; Kool en Hrubec, 33; De Greef, Morris, Van Kreijl en Morra, 20, p.913). In al die gevalle verhoog chloor die mutagenisiteit.

Hoë dosisse **chloordioksied** (5-15 mg/l) kan 'n drastiese verhoging in mutagenisiteit veroorsaak terwyl relatief lae dosisse (<5 mg/l) geen effek of net 'n effense verhoging toon (Kool en Hrubec, 33, p.228). Zoeteman *et al.* (79, p.200) het met chloordioksied dieselfde mutagenisiteit verkry as met chloor. Die konsentrasie chloordioksied hier gebruik was 5 mg/l. In 'n vergelykende studie op water vanaf die Kinnereth meer in Israel, met en sonder ontsmetting met onderskeidelik chloor of chloordioksied is die volgende waargeneem. Die water behandel met chloor het nie in 'n hoë mate die mutagenisiteit geaffekteer nie en die water behandel met chloordioksied het dit laat afneem (Guttman-Bass, Bairey-Albuquerque, Ulitzur, Chartrand en Rav-Acha, 29, p.252). Chloordioksied het die voordeel dat dit geen reuk of smaakprobleme in die water veroorsaak nie, dit is redelik stabiel in water en geen verhoging in die vorming van THM-verbindings kom voor nie. Dit het wel die nadeel dat dit toksiese reaksieprodukte soos chloriet en chloraat vorm (Kool, Hrubec, Van Kreijl en Piet, 34, p.241).

Van Hoof (71, p.476) het die effek van verskillende konsentrasies osoon getoets om die effek daarvan op die mutagenisiteit wat voorgekom het na chlorering waar te neem, en of osoon opsigself, mutagenisiteit induseer. Daar is gevind dat mutagenisiteit verwyder word deur lae dosisse osoon (2 mg/l). Die mutagenisiteit wat nie voldoende verwyder is nie het 'n verdere afname getoon met verhoogde dosisse osoon. Met die afname in mutagenisiteit het terselfdertyd 'n afname in die organiese verbindings voorgekom. Osonering by verskillende doseringsvlakke het ook mutagenisiteit geïnduseer. Hierdie resultate dui daarop dat osoon nie as alternatief vir chloor gebruik kan word waar die verlaging van mutagenisiteit die oogmerk is nie. Osoon het die voordeel dat dit die reuk en smaak van water verbeter, dit het 'n relatief hoë redokspotensiaal, oksideer organiese stowwe na meer bio-afbreekbare verbindings en het 'n mikroflokkulasie effek. Aan die anderkant het dit die nadeel dat dit die bakteriese hergroei in verspreidingsnetwerke stimuleer en dit kan ook gevaarlike verbindings vorm (Kool *et al.*, 34, p.238). In die geval van sommige rouwaters wat mutagenies is en vooraf behandel word voor osonering, kan dit ook 'n probleem veroorsaak.

Hierdie voorbehandeling sluit in die byvoeging van chloor of koaguleermiddels wat chloriede bevat, byvoorbeeld ysterchloried wat dan geoksideer word na chloor deur osonerig. 'n Oplossing vir hierdie probleem kan wees deur gebruik te maak van 'n bykomende behandeling om mutagenisiteit te verwyder voor osonerig (Noot *et al.*, 55, p.94).

Die gebruik van **chlooramien** as ontsmettingsmiddel vir drinkwater hou die volgende voordele in. Dit voorkom die ontwikkeling van onaangename smake, veral vanaf fenole. Dit beheer die groei van mikro-organismes in filters en verspreidingsnetwerke. Daar is ook nadele verbonde aan die gebruik van chlooramien. Langer kontaktyd is nodig vir die voldoende beheer van bakterieë en voldoende kontaktyd is nodig tussen die chloor en ammoniak om volledig om te skakel na chlooramien. Chlooramien is ook nie effektief teen virusse nie (Norman, Harms en Looyenga, 56, p.178). Daar is ook gevind dat onder sekere ongedefinieerde toestande chlooramien in die verspreidingsnetwerk kan lei tot die vorming van nitriet (Bernhard, 9, p.285). Cheh, Skochdopole, Koski en Cole (13, p.90) het gevind dat behandeling van water met chlooramien minder mutagenisiteit veroorsaak as die behandeling met vry-chloor. Monochlooramien vertoon mutagenies in toetse met die bakterium *Bacillus subtilis*. Backlund, Kronberg, Pensar en Tikkanen (6, p.262) het die effek van chloor, chloordioksied en osoon op water wat humussure bevat en water wat met aluin geflokkuleer is, bepaal. Hierdie resultate het getoon dat mutagenisiteit voorkom in die water nadat dit met chloor behandel is. Geen verandering in die mutagenisiteit het voorgekom in die water wat met osoon behandel is voor chlorering nie en geen mutagenisiteit het voorgekom in water wat met chloordioksied of osoon behandel is nie. Water wat met chloordioksied in kombinasie met chloor behandel is, het die mutagenisiteit verlaag. Gedurende die suiwerig van water met konvensionele behandeling (flokkulasie, sedimentasie en filtrasie) verwyder aluin flokkulasie 70-80 persent van die humusmateriaal uit die water. Mutagenisiteitspatrone van konsentrate van beide hierdie waters het ooreengekom, maar die aktiwiteit in die water wat humussure bevat was hoër as die van aluin geflokkuleerde water. Die resultate bevestig die vermoede dat mutagenisiteit ontstaan as gevolg van die reaksie tussen die ontsmettingsmiddel en humusmateriaal.

Noot *et al.* (55, p.99) het gevind dat die hoeveelheid mutagenisiteit wat gevorm word deur die verskillende ontsmettingsmiddels gewoonlik die volgende relatiewe volgorde volg: osoon < chloordioksied < chlooramien < chloor, alhoewel osoon in sommige gevalle net so hoë vlak van mutagenisiteit tot gevolg kan hê as chloor. Volgens Fiessinger, Rook en Duguet (25, p.312), wat 'n studie gedoen het op verskillende ontsmettingsmiddels ten opsigte van mutagenisiteit, is daar geen bevredigende alternatief vir chlorering nie. Chloor kan behou word as finale ontsmettingsmiddel indien organiese voorlopers voldoende verwyder word maar verdere ondersoek is nodig met betrekking tot ontsmetting en mutagenisiteit.

Verskeie metodes is bekend waarmee organiese voorlopers tot mutagene en mutagene as sulks verwyder kan word. Noordsij, Puyker en Van der Gaag (54, p.288) het gevind dat belugting en snelsandfiltrasie slegs 'n gedeelte van die mutagenisiteit verwyder. Behandeling van water met gekorrelde geaktiveerde koolstof het die

mutagenisiteit nog verder laat afneem. Koagulasie en adsorpsie op geaktiveerde koolstof verwyder organiese voorlopers (Snoeyink en Chen, 69, p.158-161). Gekorrelde geaktiveerde koolstof (GAC) en verpoëerde geaktiveerde koolstof (PAC) word hiervoor gebruik. Die doeltreffendste metode vir die verwydering van organiese voorlopers is die GAC filtrasie-adsorpsie metode. In gevalle waar onvoldoende afname van mutagenisiteit verkry is, kan dit wees as gevolg van deurbraak van organiese mutagene indien koolstof uitgeput raak na lang gebruik. Loper, Tabor, Rosenblum en DeMarco (43, p.339); Monarca, Meier en Bull (49, p.1024) het bewys dat die verwydering van mutagene nog plaasvind selfs nadat deurbraak van organiese verbindings, gemeet as totale organiese koolstof (TOC), plaasgevind het. Noordsij *et al.* (54, p.288) het totale mutageen verwydering met GAC filtrasie waargeneem vir meer as 2 jaar. Kool en Van Kreijl (35, p.1015) het mutageen deurbraak verkry na ongeveer een en 'n half jaar van behandeling. Hier is ook gevind dat duin-filtrasie mutagenisiteit laat afneem.

Alhoewel GAC filtrasie 'n effektiewe metode is om mutagene te verwyder speel die volgende faktore 'n belangrike rol: rouwaterkwaliteit, totale organiese koolstof verwydering in vooraf behandelingstappe, hoeveelheid en identiteit van promutagene en mutagene, bedryfstoestande en die tipe koolstof wat gebruik word (Noot *et al.*, 55, p.95).

#### 1.1.4 VERBAND TUSSEN MUTAGENISITEIT EN TRIHALOMETAAAN-VERBINDINGS

Organohalogeneerde verbindings word gevorm tydens die chlorering van water wat organiese materiaal bevat (Bellar, Lichtenberg en Kroner, 8, p.706). Verbindings wat hier gevorm word, is trihalometaanverbindings (THM) wat hoofsaaklik bestaan uit chloroform, bromodichlorometaan, dibromochlorometaan en bromoform, ander halogeenverbindings soos koolstoftetrachloried en 1,2-dichloroetaan. Afhangende van die voorlopers kom chloroform voor in water wat gechloreer is terwyl dit afwesig was, of in lae konsentrasies in rouwater voorkom. Daar is gevind dat bromodichlorometaan, dibromochlorometaan en bromoform in laer konsentrasies as chloroform voorkom indien daar nie bromiedverbindings teenwoordig is nie. Koolstoftetrachloried en 1,2-dichloroetaan kom normaalweg in baie lae konsentrasies voor en Gillies (26, p.88) het gevind dat die konsentrasies van dié twee verbindings nie toeneem het na chlorering nie. Dit kan dus aangeneem word dat die voorkoms van die verbindings nie verband hou met die chloreringsproses nie. Studies het ook getoon dat rouwater wat relatief vry is van organiese materiaal relatief lae konsentrasies van die trihalometaanverbindings vorm.

Die teenwoordigheid van alge kan ook 'n rol speel by die vorming van trihalometaan voorlopers. 'n Afname in THM-verbindings geproduseer vanaf alge is 'n funksie van die verwydering van die algselle voor chlorering (Oliver en Shindler, 57, p.1502). In die verspreidingsnetwerk sal THM-verbindings steeds gevorm word indien chloor en organiese voorlopers nog teenwoordig is.

Naicker (52, p.10) het aangetoon dat THM-konsentrasie wel 'n funksie is van beide die chloor-konsentrasie en kontaktyd. Studies het ook getoon dat ontchloring van water veroorsaak dat THM-konsentrasies afneem (Cotruvo, 15, p.271). Ontchloeringsmiddels, onder andere natriumtiosulfaat, natriumsulfiet en swaeldioksied, vernietig mutagenisiteit (Fielding en Horth, 24, p.118).

Dus kan dit saamgevat word dat die tempo en konsentrasie waarteen THM-verbindings vorm sal afhang van faktore soos pH, temperatuur, chloordosering, kontaktyd met chloor, eienskappe en konsentrasie van organiese voorlopers (Toft, 70, p.55).

Die standaard vir THM-konsentrasie wissel van land tot land, van so laag as een tot 300 mikrogram per liter (WHO). Suid-Afrika het geen vasgestelde standaard vir die regulering van THM-verbindings nie (Pieterse, 59, p.166). 'n Studie gedoen deur van Steenderen, Pieterse en Bourne (72, p.176) het getoon dat Suid-Afrikaanse drinkwater binne die THM-kriterium van die EPA van honderd mikrogram per liter val.

Epidemiologiese studies is gedoen om die moontlike verwantskap te bepaal tussen gevalle van kanker en konsentrasies van THM-verbindings in drinkwater. Alhoewel sommige positiewe korrelasies gerapporteer is, kon die oorsaak nie bevestig word nie as gevolg van baie onbekende of onbeheerbare faktore wat nie in berekening gebring kon word nie (Toft, 70, p.51).

Chloroform is nie mutagenies soos bepaal met die Ames *Salmonella typhimurium* mutagenisiteitstoets nie. Daar is wel gevind dat bromodichlorometaan, chlorodibromometaan en bromoform mutagenies is met hierdie toets (Simmon, Kauhanen en Tardiff, 67, p.251; Fielding en Horth, 24, p.114). Een uitstaande verskynsel wat herhaaldelik voorkom, is die toename in die THM-konsentrasie sowel as die mutagenisiteit in water wat gechloreer is.

THM-verbindings kan effektief verminder word deur eenvoudige veranderinge in die behandelingsproses (Toft, 70, p.55).

- Deur vermindering van die hoeveelheid chloor gebruik, veral in die oksidasiestap.
- Verandering van die punt van chloordosering (nadat meeste van die humusvoorlopers verwyder is deur die koagulasie, flokkulasie en filtrasiestappe)
- Verwydering van voorlopers deur adsorpsie (GAC)
- Verbetering van die pH kontrole om THM-vorming te verminder en die verwydering van die voorlopers te optimaliseer (haloformreaksie is basis gekataliseer en by 'n laer pH is die tempo van THM-vorming ook laer).

- Gebruik van alternatiewe ontsmettingsmiddels - alleen of saam met chloor.
- Verwydering van THM-verbindings nadat dit gevorm het deur belugting, GAC of 'n kombinasie van beide.

Koagulante soos aluin en ysterchloried verminder die THM-vormingspotensiaal (Chadik en Amy, 12, p.535). Faktore soos pH speel hier 'n belangrike rol. Koagulasie onder laer pH toestande verwyder meer THM-voorlopers as koagulasie by die pH van natuurlike water.

Die gebruik van **chlooramien** as ontsmettingsmiddel voorkom die vorming van THM-verbindings (Norman *et al.*, 56, p.179; Brodtmann en Russo, 10, p.41). Dit is egter noodsaaklik dat die korrekte verhouding van chloor:ammoniak-stikstof gehandhaaf moet word om te verseker dat die chloorresidu in die monochlooramienvorm bly. Indien dit nie die geval is nie sal die klein hoeveelheid vry-chloor wat oorbly dan weer die vorming van THM-verbindings bevorder.

Suiwer **chloordioksied**-oplossings, vry van chloor, het geen THM-verbindings gevorm nie. Monscivitz en Rexing (50, p.95) het dit moeilik gevind om in die sisteem waarvan hulle gebruik gemaak het te alle tye 'n suiwer chloordioksied-oplossing vry van chloor te produseer. Dit het veroorsaak dat daar sporadiese voorkoms van THM-verbindings in die behandelde water was. Hierdie waardes was wel baie laer.

Humussure wat opgelos is in water word afgebreek deur **osoon** onder UV-bestraling by pH 6.9. Die hoeveelheid chloroform en die totale organiese chloriede gevorm deur chlorering neem af deur UV-bestraling. Geen toename kom voor in die vorming van THM-verbindings in die geval van gesamentlike behandeling met UV en osoon nie (Kusakabe, Aso, Hayashi, Isomura en Morooka, 38, p.781). Van al die metodes beskryf om die THM-verbindings te verminder, is GAC behandeling die doeltreffendste. Verskeie studies het getoon dat daar 'n duidelike afname is in die THM konsentrasie van water wat met GAC behandel is (Meijers, Rook, Schultink, Smeenk, Van der Laan en Poels, 48, p.629). Die gebruik van adsorbante soos GAC het die voordeel dat dit die konsentrasies van baie van die organiese chemikalieë in die water verminder, ook die van THM voorlopers en ander organiese gechloreerde organiese verbindings. Dit beteken dat indien die konsentrasie van die organiese chemiese verbindings in die water verminder, die chemiese aanvraag vir ontsmettingsmiddel dan ook afneem. Hierdeur kan die blootstelling van die mens aan alle chemikalieë wat gebruik word as ontsmetmiddels, en hul afbraak- en byprodukte, tot die minimum beperk word (Gillies, 26, p.91).

### 1.1.5 DIE VERBAND TUSSEN MUTAGENISITEIT EN KARSINOGENISITEIT

'n Oorerflike verandering of mutasie in die genetiese materiaal van 'n somatiese sel kan 'n verandering veroorsaak in die regulering van die sel se metabolisme. Dit kan dan die sel verander in 'n kwaadaardige of kankersel. Volgens Glatz (27, p.397) verbind hierdie teorie karsinogenisiteit en mutagenisiteit direk aan mekaar. Markwood (44, p.14) beweer dat die verdedigingsmeganisme van die mens teen kankeragtige selle, die teorie dat vanaf 'n enkele kankeragtige sel daar altyd 'n gewas sal groei, onder verdenking geplaas word. Karsinogenisiteit van 'n stof hang af van hoe dit reageer met spesifieke selle, hoe dit gemetaboliseer en uitgeskei word asook die konsentrasie, tydsduur en frekwensie van dosering.

Die potensiaal van organiese mengsels om kanker te veroorsaak kan soos volg vasgestel word. Kroniese blootstelling aan sub-toksiese vlakke van chemiese verbindings neem baie lank om waar te neem. Daarom is kort-termyn bio-essaiëring van groot belang. Dit sluit onder andere die blootstelling van bakterieë aan organiese konsentre, om mutagenisiteit aan te toon, in. Daar kan ook gebruik gemaak word van toetse met soogdierselkulture. Koste hieraan verbonde is baie hoër as waar met bakterieë gewerk word, dit neem langer om uit te voer en dit is moeiliker om hierdie selle te kweek. Om te bevestig dat organiese verbindings wat transformasie in soogdierselle veroorsaak het wel mutagenies is, kan die selle in muise ingespuut word. Wanneer gewasse gevorm word kan dit aangeneem word dat die organiese verbindings karsinogenies is.

In die geval van drinkwater kom moontlike mutagene stowwe in lae konsentrasies voor terwyl dit by hoë konsentrasies karsinogenies kan wees. Volgens Markwood (44, p.14) is die konsentrasie van stowwe wat in mikrogram per liter konsentrasie voorkom in water (tensy dit akkumuleer in die liggaam) te laag om karsinogenies te wees. Om die effek van lae dosisse op die mens voor te stel word hoë dosisse van die verbindings getoets op diere en kan daaruit ge-ekstrapoleer word wat die effek op die mens sou wees. Hierdie dosisse word gebaseer op die aanhoudende blootstelling vir 'n leeftyd (70 jaar).

In 1973 het Ames, Durston, Yamasaki en Lee (1, p.2284) in 'n studie waar karsinogene getoets is as mutagene, bewys dat 18 bekende karsinogene, mutagene kan wees. Hierna het McCann en Ames (47, p.950) in 1976 ongeveer 300 karsinogene en nie-karsinogene vir mutagenisiteit getoets in die Ames *Salmonella* mikroskoop toets. Negentig persent van die karsinogene was mutagenies in die toets en het omtrent al die bekende karsinogene van die mens ingesluit. Tabel 1.2 toon karsinogene en nie-karsinogene waarvan die mutagenisiteit bepaal is met die Ames *Salmonella* mikroskoop toets (Ames en Haroun, 2, p.1028). Die verband tussen karsinogenisiteit en mutagenisiteit is deur die bevindings versterk. Baie van die bekende karsinogene veroorsaak leesraamwerkverskuiwingmutasies waar ander minder kragtige karsinogene basispaarvervangingsmutasies veroorsaak.

Meeste chemiese karsinogene is nie as sulks biologies aktief nie. Metaboliese prosesse, wat voedsel omskakel in stowwe wat die liggaam absorbeer of elimineer en skadelike verbindings kan neutraliseer, verander chemikalieë wat in die omgewing voorkom na metaboliete wat kanker kan induseer (Devoret, 22, p.30).

**Tabel 1.2 Opsomming van vier studies in *Salmonella* met organiese chemiese karsinogene en nie-karsinogene**

| Aantal<br>getoets | Karsinogene<br>Mutagenisiteit<br>in <i>Salmonella</i> |     | Aantal<br>getoets | Nie-karsinogene<br>Mutagenisiteit<br>in <i>Salmonella</i> |     |
|-------------------|-------------------------------------------------------|-----|-------------------|-----------------------------------------------------------|-----|
|                   | (+)                                                   | (-) |                   | (+)                                                       | (-) |
| 174               | 90%                                                   | 10% | 108               | 13%                                                       | 87% |
| 167               | 85                                                    | 15  | 86                | 26                                                        | 74  |
| 58                | 91                                                    | 9   | 62                | 6                                                         | 94  |
| 38                | 72                                                    | 28  | 16                | 19                                                        | 81  |

Epidemiologiese studies is gedoen om die verwantskap tussen chlorering en kanker aan te toon. Die bepaling van die blootstelling van die mens aan omgewingskontaminante of risiko-faktore is baie moeilik en word deur drie faktore bepaal (Morris, Audet, Angelillo, Chalmers en Mosteller, 51, p.956):

- Die omgewing waaraan die persoon blootgestel word.
- Die konsentrasie van verbindings in die omgewing
- Die graad van blootstelling van 'n persoon aan daardie omgewing.

In die geval van drinkwater word dan spesifiek gekyk na:

- die bron van behandelde kraanwater
- konsentrasie van chloreringsbyprodukte in daardie kraanwater
- die hoeveelheid kraanwater gebruik

Verskillende studies het getoon dat daar 'n moontlike verband is tussen blaas-, rektale- en kolonkanker en gechlloreerde water. Verskeie omgewingsfaktore soos rook, dieet, lugbesoedeling is in baie gevalle nie in berekening gebring nie. Daarom kan 'n definitiewe verband tussen die gebruik van gechlloreerde water en die voorkoms van kanker nie met sekerheid bevestig word nie. (Crump en Guess, 19, p.347).

'n Studie oor die moontlike verband tussen kolonkanker en water chlorering in Noord Carolina is gedoen deur Cragle, Shy, Struba en Siff (17, p.158). Daar is gevind dat die gebruik van gechlloreerde water geassosieer kan word met die voorkoms van

kolonkanker. Hierdie verband is ook 'n funksie van ouderdom aangesien die positiewe verwantskap wat gevind is voorgekom het by mense bo 60 jaar. Zierler, Dauley en Feingold (76, p.275) het aangetoon dat daar 'n effense toename in blaaskanker was in populasies van Massachusetts wat gechlloreerde oppervlakwater ontvang het in vergelyking met populasies wat gechllooramineerde oppervlakwater ontvang het. Ander studies het 'n verband getoon tussen blaaskanker en die blootstelling aan chloreringsbyprodukte in drinkwater. Dieselfde verband is waargeneem in die geval van rektalekanker. Geen verband is waargeneem met kolonkanker nie. Volgens Morris *et al.* (51, p.962) sou dieselfde verband bestaan het tussen kolon- en rektalekanker indien dieet verantwoordelik was vir die waargenome verband.

Daar is verskeie maniere hoe chemiese karsinogene kan voorkom in drinkwater. Volgens Bull (11, p.406) is dit duidelik dat chemiese karsinogene wat in drinkwater voorkom hoofsaaklik afkomstig is van industriële kontaminasie. Behalwe chloroform wat bekend is vir karsinogenisiteit in muise is daar ander chloreringsbyprodukte soos halo-asetonitriele en 2,4,6-trichlorofenol wat ook karsinogenisiteit toon. Daarom moet daar nie net na THM-verbindings gekyk word nie. Volgens Morris *et al.* (51, p.962) is dit van groot belang dat hierdie bevindings, waarin na die gevallestudies verwys word, nie tot gevolg moet hê dat chlorering van water uitgeskakel moet word nie. Die potensiele gesondheidsrisiko van mikrobiologiese kontaminasie van drinkwater is van groter belang as die risiko met betrekking tot karsinogenisiteit.

#### 1.1.6 BEGINSELS VAN DIE AMESTOETS

Die Ames *Salmonella* mikrosomtoets is ontwikkel deur Bruce Ames van die Universiteit van California (Ames, McCann en Yamazaki, 5, p.347). In hierdie toets word verskillende mutante van *Salmonella typhimurium*, wat elkeen 'n verskillende mutasie in die histidienoperon het, gebruik. Die mutante, geselekteer vir sensitiwiteit en spesifisiteit, besit nie die geen wat vir histidiensintese verantwoordelik is nie en kan dus nie groei indien daar nie histidien by die medium gevoeg is nie. Die toets berus dus op die beginsel dat 'n chemiese stof 'n gereduseerde terugmutasie in die toetsras kan veroorsaak. Die organisme herwin weer die vermoë om histidien te sintetiseer en kan dan in medium sonder histidien groei. Terugmutasies kan ook spontaan plaasvind en elkeen van die toetsrasse gee 'n bepaalde aantal spontane terugmutasies (Maron, 45, p. 175)

Die spesifisiteit van die Amestoets is verhoog deur gebruik te maak van verskillende rasse van *Salmonella typhimurium* wat verskil in sensitiwiteit vir verskillende mutagene, onder andere rasse TA100 en TA98.

Nuwe toetsrasse is sedertdien ontwikkel wat meer sensitief is vir die opsporing van mutagene naamlik, TA97 (Levin, Yamasaki en Ames, 41, p.315) en TA102 (Levin, Hallstein, Christman, Schwiers en Ames, 40, p.7445). Met die Amestoets kan twee tipes mutasies onderskei word.

## 1. Leesraamwerkverskuiwingmutasie met TA97 en TA98

Dit is 'n mutasie as gevolg van die weglating of byvoeging van een of meer basisse vanaf die DNA. Die toetsrasse het 'n spontane terugmutasie tempo van onderskeidelik 90 tot 180 en 30 tot 50.

## 2. Basispaarvervangingmutasie met TA100 en TA102

Die mutasie is 'n vervanging van 'n basispaar in die DNA met 'n ander basispaar. Die toetsrasse het 'n spontane terugmutasie tempo van onderskeidelik 120 tot 200 en 240 tot 320.

Indien 'n chemiese stof 'n leesraamwerkverskuiwingmutasie veroorsaak, sal dit die terugmutasie tempo van TA97 en TA98 bokant die normale bogenoemde waarde verhoog. Dieselfde geld vir TA100 en TA102 met 'n chemiese stof wat basispaarmutasies kan veroorsaak.

Behalwe vir die mutasie in die histidienoperon het die toetsrasse ook ander mutasies wat dit meer sensitief vir die bepaling van mutagene stowwe maak (Maron, 45, p. 180).

- Die rfa-mutasie veroorsaak 'n gedeeltelike verlies van die lipopolisakkariedlaag. Dit verhoog die deurlaatbaarheid vir groot organiese molekules soos benzo(a)pireen, wat nie die normale selwand kan binnegaan nie. Voordat 'n chemiese stof enige uitwerking kan hê moet dit met die DNA binne die sel in aanraking kom om 'n mutasie te veroorsaak.
- UvrB-mutasies word veroorsaak deur die weglating van die geen wat kodeer vir die herstel van die organisme en enige fout wat in die DNA ontstaan, korrigeer. Die uvrB-mutasie, wat die toetsorganisme meer sensitief vir die bepaling van 'n wyer reeks mutagene maak, strek oor die bio-geen, wat veroorsaak dat die mutante nie biotien kan sintetiseer nie. Die mutant TA102 het nie die uvrB-mutasie nie.
- Die mutante het ook die R-faktor plasmied pKM101 wat die DNA herstelmechanisme beïnvloed. Die plasmied veroorsaak ook weerstandbiedendheid van die mutante teenoor ampisillien. TA102 het ook benewens die R-faktor plasmied die pAQ1 plasmied. Die plasmied dra die histidien-mutasie sowel as die tetrasiklien weerstandbiedende geen. TA102 is dus weerstandbiedend teenoor tetrasiklien sowel as ampisillien.

Die toets word ook gebruik om 'n groot verskeidenheid karsinogene, wat metabolisme aktivering benodig, op te spoor (Ames *et al.*, 1, p.2281). Dit word gedoen deur die byvoeging van homogenaat van rotlewer in die toets. Dit stel die soogdier metabolisme in die *in vitro* toets voor. S9 is 'n homogenaat wat uit rotlewers voorberei word nadat die rotte met poligechlloreerde bifeniël, Aroclor 1254, intraperitonaal ingespuut is om lewerensieme te induseer. Die ensieme wat in die homogenaat aanwesig is, aktiveer sekere chemiese stowwe om mutagenies te raak. Die byvoeging van S9 by die *Salmonella typhimurium* rasse wanneer die mutagenisiteit van chemiese stowwe bepaal word, maak die toets meer sensitief. Dit kan egter voorkom dat die S9 'n vermindering in die aantal terugmutante veroorsaak.

### 1.1.7 TOEPASSINGS EN TEKORTKOMINGE VAN DIE AMESTOETS

Die Ames *Salmonella* mutagenisiteitstoets is baie bekend en word wêreldwyd gebruik. Dit is die algemeenste gebruikte kort-termyn toets vir die bepaling van omgewings mutagene en karsinogene. Dit word gebruik in meer as 2000 staats-, industriële en akademiese laboratoriums dwarsdeur die wêreld. Die toets het ook ander gebruike soos die bepaling van die toksisiteit van 'n chemiese stof wat nie maklik met diertoetse bepaal kan word nie (Ames en Haroun, 2, p.1025). Daar is 'n breë spektrum van toepassings van die Amestoets. Die Amestoets word wêreldwyd gebruik vir die bepaling van mutagenisiteit in drinkwater (Kool, 32, p.34; Sanchez *et al.*, 64, p.146). Daar is ander gebruike soos die bepaling van mutagenisiteit in pulp- en papiermeulaflope (Langi en Priha, 39, p.143) en die bepaling van mutagenisiteit in munisipale slyk (Clevenger, Hemphill, Roberts en Mullins, 14, p.1470). Dit kan ook in die kosmetiese veld gebruik word byvoorbeeld in die bepaling van mutagenisiteit van haarkleursels (Ames, Kammen en Yamasaki, 3, p.2423).

Die toets het die voordeel dat dit relatief eenvoudig is om uit te voer in 'n eenvoudige toegeruste laboratorium, relatief goedkoop materiaal word benodig en resultate is gou beskikbaar. Die Amestoets het daarby ook tekortkominge. Verskeie navorsers (Rinkus en Legator, 61, p.4197; Ames en McCann, 4, p.4194) het gevind dat die karsinogenisiteit van sekere poligechlloreerde plaagdoders nie met die Amestoets bepaal kan word nie. Vals-positiewe resultate is nie so groot rede tot kommer as die vals-negatiewe resultate nie aangesien sulke potensiële gevaarlike stowwe eksperimenteel "veilig" voorkom. Metaalkarsinogene is ook negatief in die Amestoets, moontlik omdat dit vasgevang word in groot hoeveelhede onoplosbare chelate in die medium. Sommige karsinogene kan selle verander deur 'n nie-mutageniese meganisme en kan dus nie met die Amestoets bepaal word nie. Ander kan mutasies veroorsaak wat nie spesifiek is vir die toetsrasse nie maar addisionele toetse met ander toetsrasse benodig. Sommige verbindings soos antibiotika kan ook nie as mutagene opgespoor word nie omdat dit toksies is vir die sel (Glatz, 27, p.399).

## HOOFSTUK 2

### BEPALING VAN MUTAGENISITEIT IN ROUWATERBRONNE EN WATER UIT VERSKILLENDE BEHANDELINGSTADIA (GROEP I)

#### 2.1 WATERMONSTERS

Mutagenisiteit is ondersoek in die volgende watermonsters wat so gekies is dat dit verteenwoordigend was van die gehalte van rouwaterbronne beskikbaar vir behandeling, en veranderinge wat gedurende die normale behandelingsproses plaasvind, sou reflekteer.

- Kliprivier (hoogs besoedelde rouwaterbron)
- Vaaldam (onbesoedelde rouwaterbron)
- Na besinking en pH aanpassing by Vereeniging suiweringsaanleg
- Na sandfiltrasie by Vereeniging suiweringsaanleg
- Direk na breekpuntchlorering by Vereeniging suiweringsaanleg

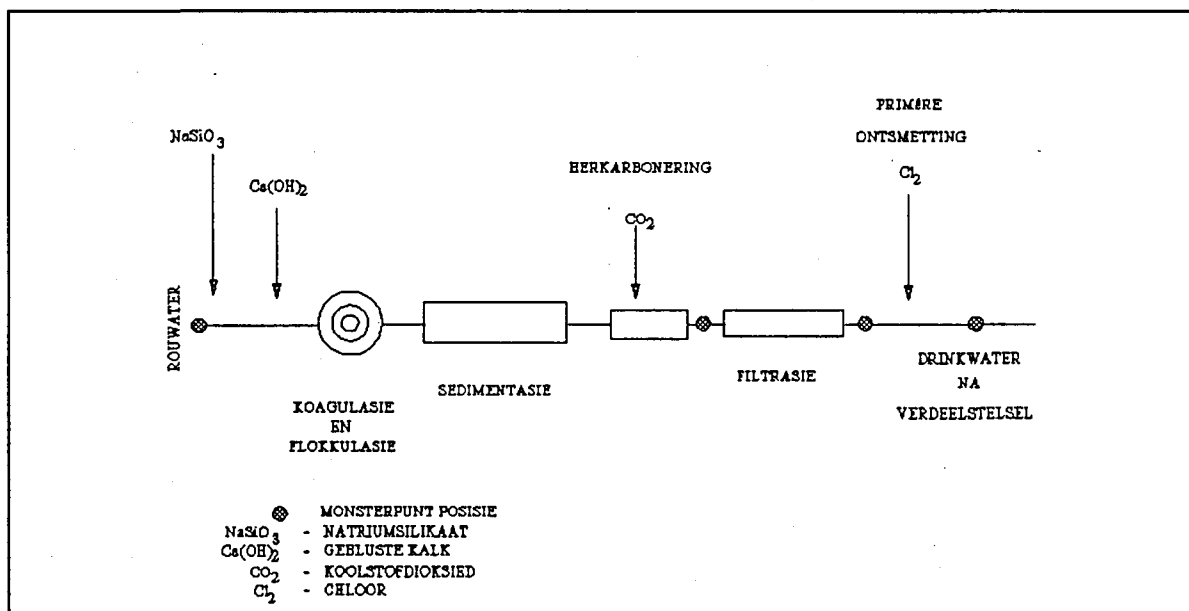


Diagram 2.1 Skematiese voorstelling van watersuiweringsaanleg en posisie van monsterpunte

## 2.2 EKSPERIMENTELE ONDERSOEK

Watermonsters afkomstig vanaf die bogenoemde bronne is op vier verskillende geleenthede geneem vir die bereiding van ekstrakte deur adsorpsie en konsentrering op XAD hars. 'n Spesifieke volume water van elke bron is onder stikstofdruk, teen 'n tempo van 60 ml/min, deur 'n Sartorius glasveselmembraan voorfilter en 'n 0.45  $\mu$ m sellulose-nitraat membraanfilter en twee kolomme (in serie), gepak met 20 ml XAD-7 hars, gestuur. Aanvanklik is 40 liter water gebruik om die ekstrakte van Vaaldamwater, na karbonering en na sandfiltrasie te berei. Vir Kliprivier en water direk na breekpuntchlorering is onderskeidelik 80 liter en 120 liter gebruik. Aangesien dit voorgekom het asof die konsentrasie te laag was om mutagene reaksie te verkry, is hierdie volumes stelselmatig vermeerder tot 'n maksimum van 260 liter vir Kliprivier, 200 liter Vaaldam water, na karbonering en na sandfiltrasie, en 300 liter water direk na breekpuntchlorering. Veertig ml DMSO (dimetielsulfoksied) is deurgaans vir eluering gebruik en die konsentrasie faktor is soos volg bepaal:

- 200 liter water gekonsentreer na 40 ml

$$\therefore \frac{200\,000}{40} \text{ ml} = 5000 \text{ X gekonsentreer}$$

- 260 liter water gekonsentreer na 40 ml

$$\therefore \frac{260\,000}{40} \text{ ml} = 6500 \text{ X gekonsentreer}$$

- 300 liter water gekonsentreer na 40 ml

$$\therefore \frac{300\,000}{40} \text{ ml} = 7500 \text{ X gekonsentreer}$$

Gesuiwerde XAD-7 hars is gebruik om moontlike mutagene uit die water te adsorbeer en te konsentreer. Die hars is gesuiwer deur kontinue Soxhlet ekstraksie vir 16 uur onderskeidelik in metanol, diëtieleter, asetonitriël en weer in metanol (Kool, 32, p.16). Vir ekstraksie is twee kolomme in serie gebruik sodat indien deurbraak van mutagene deur die eerste kolom sou

**Tabel 2.1 Vergelyking tussen die mutagenisiteit in ekstrakte gemaak op verskillende XAD harse uit dieselfde water.**

| XAD hars | Mutagenisiteit (MR) |      |
|----------|---------------------|------|
|          | TA100               | TA98 |
| XAD-7    | Toksies             | 4.4  |
| XAD-2    | 4.1                 | 5.9  |
| XAD-4    | 2.2                 | 2.2  |
| XAD-4/8  | 1.6                 | 4.6  |

plaasvind, dit in die tweede kolom geadsorbeer sou word (Van Rossum *et al.*, 73, p.11). Uit elke bron is dus twee ekstrakte berei. Die doeltreffendheid van die XAD-7 hars is eksperimenteel vergelyk met die van XAD-2, XAD-4 en 'n mengsel van gelyke volumes van XAD-4 en XAD-8 hars (Tabel 2.1). Vanuit hierdie resultate blyk

die XAD-7 hars die doeltreffendste vir die konsentring van mutagene te wees. Die ekstrakte is getoets soos beskryf in "Revised methods for the *Salmonella* mutagenicity test" (Maron en Ames, 45, p.192). *Salmonella typhimurium* TA97, TA98, TA100 en TA102 is gebruik. Hierdie toetsrasse is direk vanaf Prof B. N. Ames (Biochemistry Department, University of California, Berkeley, California, 94720, USA) verkry. Die toetse is met en sonder die byvoeging van die rotlewer ekstrak, S9-mengsel, uitgevoer. Tydens al die lopies is daar volledige chemiese analise uitgevoer (Addendum B) asook die bepaling van die totale trihalometaanverbindinge (TTHM) met die bo-damp metode soos gebruik deur die Randwaterraad. Mutagenisiteit is vasgestel waar 'n verdubbeling van aantal terugmutante (mutasietempo 'n faktor van  $\geq 2$ ) asook 'n dosisverwante reaksie verkry is. 'n Toename in die aantal terugmutante verkry, met die toename in die konsentrasie van die ekstrak dui op 'n dosis verwante reaksie.

## 2.3 RESULTATE

### 2.3.1 Verwerkte data

Tabel 2.2 toon die mutagenisiteit waargeneem in rouwater en in water vanaf die verskillende behandelingstadia.

**Tabel 2.2 Bepaling van die mutagenisiteit in rouwater en water vanaf die verskillende behandelingstadia**

| Water-monster                         | Vol(1)<br>(X) | DOC<br>mg/l | TTHM<br>$\mu\text{g/l}$ | XAD-7<br>kolom | MR    |     |      |     |      |     |       |     |
|---------------------------------------|---------------|-------------|-------------------------|----------------|-------|-----|------|-----|------|-----|-------|-----|
|                                       |               |             |                         |                | TA100 |     | TA98 |     | TA97 |     | TA102 |     |
|                                       |               |             |                         |                | -S9   | +S9 | -S9  | +S9 | -S9  | +S9 | -S9   | +S9 |
| Kliprivier                            | 260<br>(6500) | 7.2         | 2                       | 1              | 0.9   | 0.7 | 1.0  | 1.0 | 0.6  | 0.6 | 1.0   | 0.6 |
|                                       |               |             |                         | 2              | 1.2   | 0.9 | 1.3  | 1.2 | 0.9  | 0.7 | 1.0   | 1.0 |
| Vaaldam*                              | 200<br>(5000) | 4.5         | 1                       | 1              | 0.6   | 0.7 | 1.0  | 0.7 | 0.7  | 0.7 | 0.7   | 0.8 |
|                                       |               |             |                         | 2              | 0.7   | 0.7 | 1.1  | 1.0 | 0.7  | 0.9 | 1.2   | 0.9 |
| Na karbo-<br>nering                   | 200<br>(5000) | 6.2         | 7                       | 1              | 0.9   | 1.0 | 1.0  | 1.2 | 1.1  | 1.3 | 0.7   | 0.6 |
|                                       |               |             |                         | 2              | 0.9   | 0.9 | 1.0  | 1.3 | 0.9  | 0.8 | 1.1   | 0.9 |
| Na sand-<br>filtrasie                 | 200<br>(5000) | 5.6         | 7                       | 1              | 0.9   | 0.9 | 1.3  | 1.5 | 1.1  | 0.7 | 1.1   | 0.7 |
|                                       |               |             |                         | 2              | 1.0   | 1.1 | 1.0  | 0.9 | 0.6  | 0.2 | 0.8   | 0.8 |
| Direk na<br>breekpunt-<br>chlorering* | 300<br>(7500) | 4.5         | 26                      | 1              | 2.1   | 1.2 | 1.8  | 1.7 | 1.8  | 1.5 | 1.1   | 0.9 |
|                                       |               |             |                         | 2              | 1.3   | 0.9 | 1.4  | 1.2 | 1.3  | 1.1 | 0.9   | 1.0 |

MR Mutasie tempo: Moontlik mutagenies as  $\text{MR} \geq 2$  - S9: sonder die S9-mengsel

(X): Konsentrasiefaktor

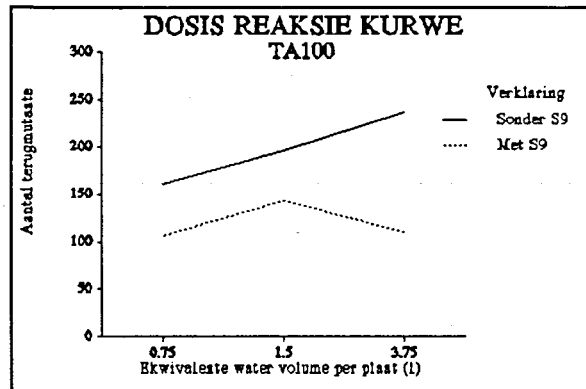
+ S9: met die S9-mengsel

\*: MR waardes is die gemiddeld van 2 Amestoetse

XAD-7 kolom 1: eerste kolom; 2: tweede kolom

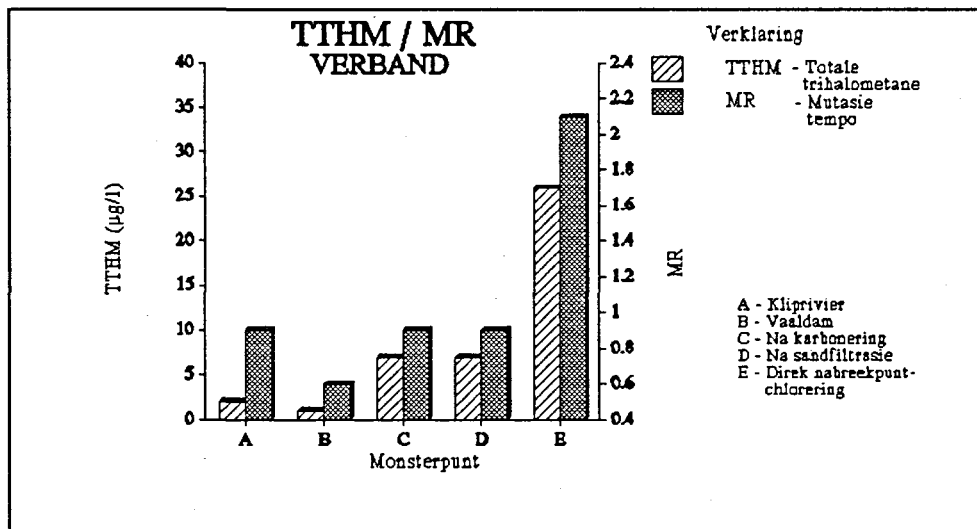
### 2.3.2 Grafiese voorstelling

Figuur 2.1 toon 'n dosis verwante reaksie wat verkry is in water direk na breekpuntchlorering en mag dui op mutagenisiteit. Hierdie is slegs 'n voorbeeld van een van die gevalle waar mutagenisiteit waargeneem is in water direk na breekpuntchlorering.

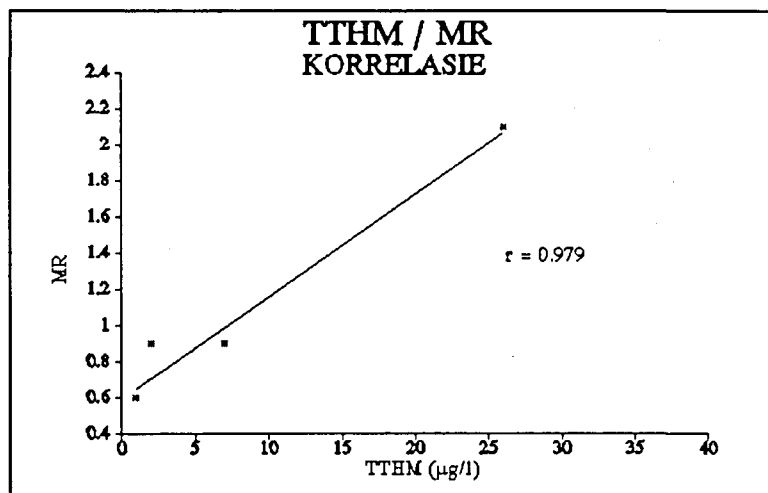


Figuur 2.1 Dosis verwante reaksie verkry met TA100 met ekstrak uit water direk na breekpuntchlorering.

Die moontlike verband tussen die TTHM-konsentrasie en mutagenisiteit word in Figure 2.2 en 2.3 aangedui.



Figuur 2.2 Verband tussen TTHM-konsentrasie en mutagenisiteit en 'n vergelyking tussen die determinand konsentrasie in verskillende watermonsters uit Groep I, getoets met TA100 sonder S9



Figuur 2.3 Korrelasie tussen die TTHM-konsentrasie en mutasie tempo vir TA100 sonder S9-mengsel

## 2.4 BESPREKING

Onder die eksperimentele toestande is daar geen mutagenisiteit waargeneem in Kliprivier water, Vaaldam water, water na karbonering of na sandfiltrasie nie. Deur die konsentrasiefaktor in die voorbereiding van die ekstrakte in ag te neem, kan die resultate verkry met ekstrakte uit verskillende waterbronne met mekaar vergelyk word. In die verskillende bepalings is die toetskulture blootgestel aan ekwivalente volumes water. Mutagenisiteit is wel gevind in die water direk na breekpuntchlorering. Reaksie is verkry met TA100, TA98 en TA97 sonder die byvoeging van die S9-mengsel. In meeste van die gevalle het die byvoeging van S9 die reaksies verswak (Tabel 2.2 en Figuur 2.1). Geen mutagenisiteit is verkry met toetsras TA102 nie. Een van die toetse van water direk na breekpuntchlorering, met TA98 en TA97, is slegs 'n dosis verwante reaksie verkry en nie 'n verdubbeling van die aantal terugmutante nie alhoewel tog 'n duidelike toename in terugmutante voorgekom het. Dit word 'n marginale reaksie genoem.

'n Duidelike toename in die TTHM-konsentrasie nadat die water gechloreer is, is waargeneem (Figuur 2.2). Dit wil voorkom asof daar 'n verband is tussen die toename in die TTHM-konsentrasie en die toename in die mutagenisiteit. Geen verband kon tussen die DOC-waardes en mutagenisiteit waargeneem word nie (Tabel 2.2).

## 2.5 GEVOLGTREKKING

Dit is duidelik uit die resultate dat ontsmetting van water met chloor mutagenisiteit veroorsaak en die TTHM-konsentrasie laat toeneem. Afgesien van die beperkte data beskikbaar kan daar afgelei word dat daar 'n moontlike verband bestaan tussen TTHM-konsentrasie en mutagenisiteit (Figuur 2.3). Daar kan aanvaar word dat onder die spesifieke eksperimentele toestande geen mutagene voorgekom het in die rouwater nie en dat dit ook nie gevorm word tydens die verskillende behandelingprosesse tot voor primêre ontsmetting nie.

## HOOFSTUK 3

### BEPALING VAN MUTAGENISITEIT IN WATER VANUIT DIE VERDEELSTELSEL TOT WAAR DIT DIE EINDVERBRUIKER BEREIK (GROEP II)

#### 3.1 WATERMONSTERS

Mutagenisiteit is ondersoek in watermonsters geneem nadat water ontsmet is tot waar dit die eindverbruiker bereik. Watermonsters is soos volg gekies (Diagram 3.1):

- Een uur na breekpuntchlorering by Vereeniging suiweringaanleg
- Voor chlooraminering by Eikenhof pompstasie (6 uur na breekpuntchlorering)
- Na chlooraminering by Eikenhof pompstasie
- Verdeelstelseleindpunt by Rustenburg (24 uur na chlooraminering). Kraanwater by 'n eindverbruiker is hier gebruik

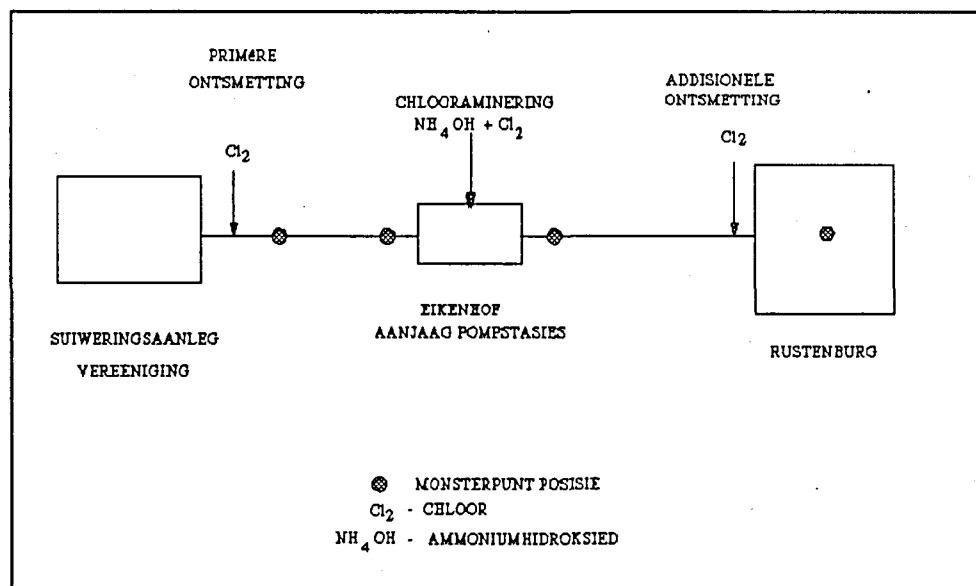


Diagram 3.1 Skematiese voorstelling van die verdeelstelsel en posisie van monsterpunte

Die Randwaterraad se verskaffingsgebied word in Diagram 3.2 aangedui.

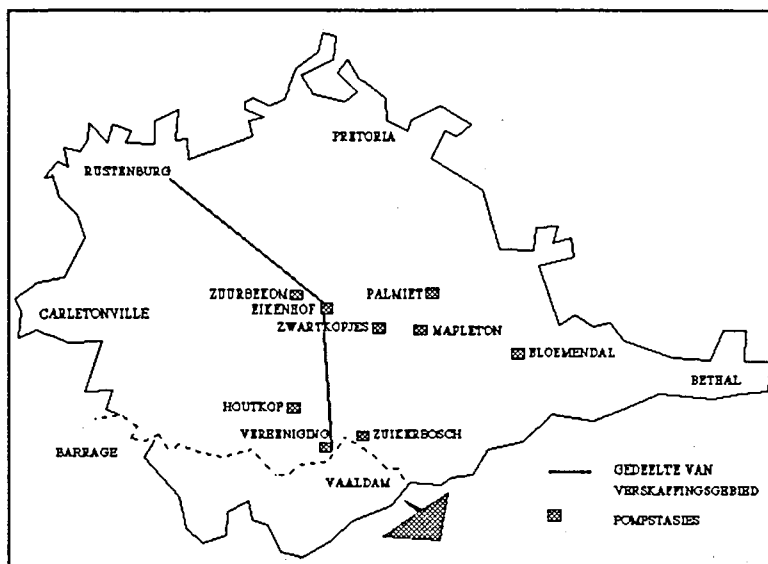


Diagram 3.2 Skematiese voorstelling van die Randwaterraad se verskaffingsgebied

### 3.1.2 EKSPERIMENTELE ONDERSOEK

Aanvanklik is 80 liter water gebruik om ekstrakte te berei. Hierna is dit stelselmatig vermeerder na 140 liter om mutagene reaksie te verseker. Water is onder stikstofdruk teen 'n tempo van 60 ml/min, deur 'n glasveselmembraan voorfilter en 0.45  $\mu\text{m}$  sellulose-nitraat membraanfilter en twee kolomme (in serie), gepak met 20 ml XAD-7 hars, gestuur. Vyf en twintig ml DMSO is deurgaans vir eluering gebruik. Die volume DMSO is verminder aangesien minder ekstrak nodig was omdat slegs twee toetsrasse gebruik is. Na aanleiding van resultate verkry uit die ondersoek van Groep I watermonsters is besluit om slegs gebruik te maak van *Salmonella typhimurium* TA100 en TA98. Mutagenisiteit is met veral hierdie twee toetsrasse verkry en dié toetsrasse word oor die algemeen deur navorsers gebruik.

Watermonsters afkomstig vanaf die verskillende bronne is op nege verskillende geleenthede geneem vir die bereiding van ekstrakte. Konsentrasie faktore het hier gewissel van 3 200 tot 5 600 (sien 2.2). Die water geneem by drie geleenthede is ontchloor deur die byvoeging van 1 ml van 'n 10% natriumtiosulfaatoplossing by 20 liter water. Tydens die laaste 4 geleenthede is die water nie ontchloor nie. Die Ames toets is gebruik vir die bepaling van mutagenisiteit en die toets is met en sonder die byvoeging van die S9-mengsel uitgevoer. Volledige chemiese analise asook die bepaling van TTHM-konsentrasie is tydens die uitvoering van elke lopie gedoen.

### 3.3 RESULTATE

#### 3.3.1 Verwerkte data

Die mutagenisiteit soos waargeneem in water vanuit Groep II word in Tabel 3.1 aangetoon. Tabel 3.2 toon die vergelyking in die mutagenisiteit in water as sulks en water wat ontchloor is.

**Tabel 3.1 Bepaling van die mutagenisiteit in water vanuit die verdeelstelsel tot by die eindverbruiker**

| Watermonster                           | Vol(1)<br>(X) | DOC<br>mg/l | TTHM<br>µg/l | XAD-7<br>kolom | MR               |                  |                  |                  |
|----------------------------------------|---------------|-------------|--------------|----------------|------------------|------------------|------------------|------------------|
|                                        |               |             |              |                | TA100            |                  | TA98             |                  |
|                                        |               |             |              |                | -S9              | +S9              | -S9              | +S9              |
| Een uur na<br>breekpunt-<br>chlorering | 140           | 4.8         | 39           | 1              | 1.7 <sup>a</sup> | 1.3 <sup>a</sup> | 2.6 <sup>b</sup> | 1.7 <sup>b</sup> |
|                                        | (5600)        |             |              | 2              | 1.0 <sup>a</sup> | 1.2 <sup>a</sup> | 1.5 <sup>b</sup> | 1.2 <sup>b</sup> |
| Voor chloor-<br>aminering              | 140           | 3.8         | 54           | 1              | 2.0              | 1.3              | 2.9              | 1.7              |
|                                        | (5600)        |             |              | 2              | 1.1              | 1.2              | 1.4              | 1.3              |
| Na chloor-<br>aminering                | 140           | 4.8         | 54           | 1              | 1.9              | 1.4              | 2.9              | 1.9              |
|                                        | (5600)        |             |              | 2              | 1.2              | 1.1              | 1.5              | 1.4              |
| Rustenburg                             | 140           | 3.3         | 57           | 1              | 1.9 <sup>b</sup> | 1.3 <sup>b</sup> | 3.4              | 2.2              |
|                                        | (5600)        |             |              | 2              | 1.3 <sup>b</sup> | 1.2 <sup>b</sup> | 1.6              | 1.3              |

MR: Mutasie tempo (Moontlik mutagenies as MR  $\geq 2$ ) gemiddeld van 4 Amestoetse

(X): Konsentrasiefaktor

a: gemiddeld van 2 Amestoetse

-S9: sonder die S9-mengsel

b: gemiddeld van 3 Amestoetse

+S9: met die S9-mengsel

XAD-7 kolom 1: eerste kolom; 2: tweede kolom

**Tabel 3.2 Vergelyking van die mutagenisiteit in ontchloorde water en water wat chloor bevat**

| Watermonster            | Vol(1) | MR               |                  |
|-------------------------|--------|------------------|------------------|
|                         |        | TA100(-S9)       | TA98(-S9)        |
| Na chloor-<br>aminering | 140    | 2.2              | 2.8              |
|                         |        | 1.1 <sup>*</sup> | 2.2 <sup>*</sup> |
| Rustenburg              | 140    | 1.5              | 3.6              |
|                         |        | 1.4 <sup>*</sup> | 2.1 <sup>*</sup> |

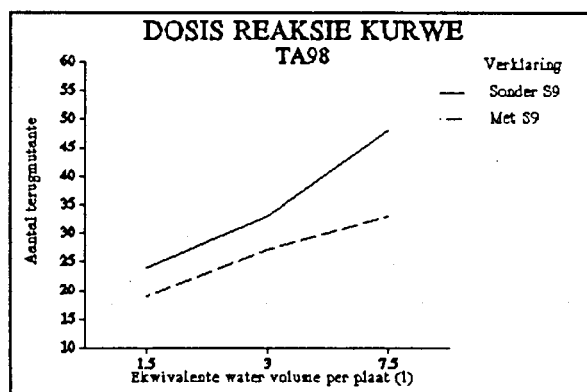
MR: Mutasie tempo

- S9: sonder S9

\*: Ontchloorde water

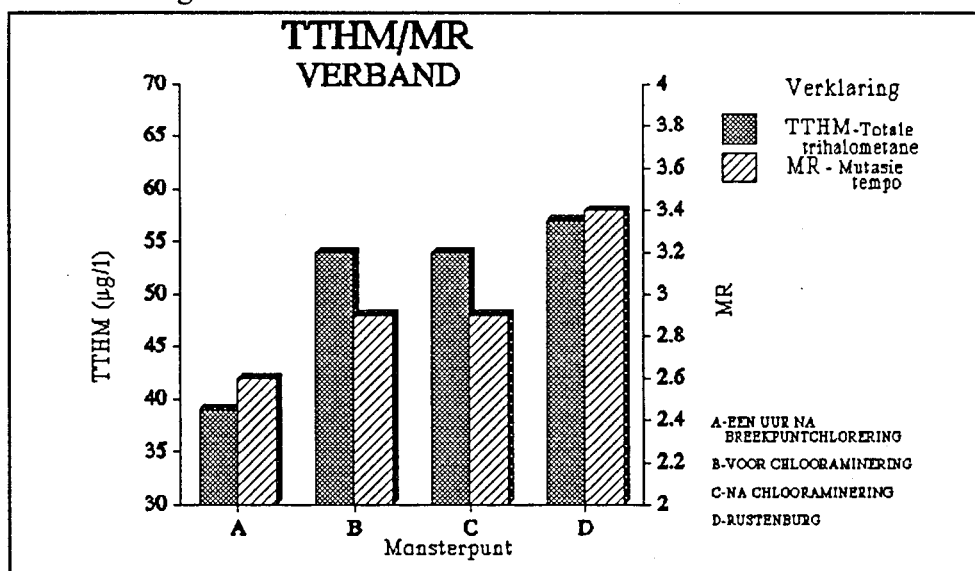
### 3.3.2 Grafiese voorstelling

Figuur 3.1 dui 'n dosis verwante reaksie aan verkry met water vanaf Rustenburg. Hierdie is slegs 'n voorbeeld van die gevalle waar mutagenisiteit waargeneem is.

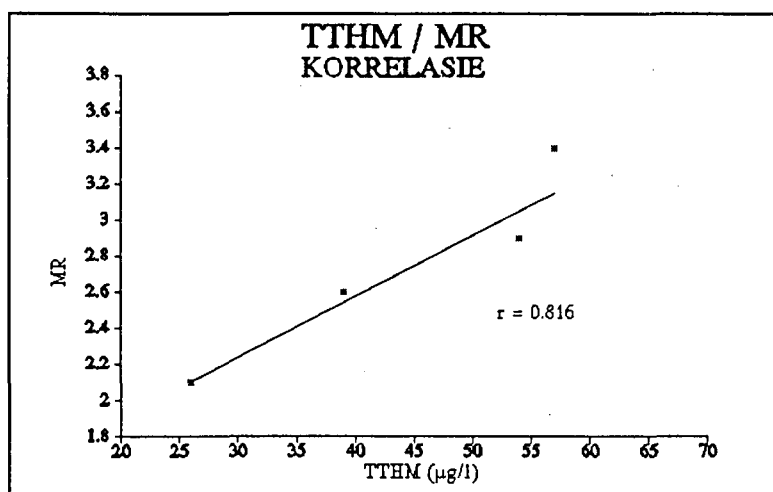


Figuur 3.1 Dosis verwante reaksie verkry met TA98 met ekstrak van water vanaf Rustenburg

Die moontlike verband tussen TTHM-konsentrasie en mutagenisiteit word in Figure 3.2 en 3.3 aangedui.



Figuur 3.2 Verband tussen TTHM-konsentrasies en mutagenisiteit en 'n vergelyking tussen die determinand konsentrasies in verskillende watermonsters uit Groep II, getoets met TA98 sonder S9



Figuur 3.3 Korrelasie tussen die TTHM konsentrasie en mutasie tempo vir TA98 sonder die S9-mengsel

### 3.4 BESPREKING

Tydens die drie geleenthede, waar die water ontchloor is, is geen mutagenisiteit waargeneem nie. By al vier die opeenvolgende geleenthede is mutagenisiteit waargeneem in water geneem een uur na breekpuntchlorering, voor chlooraminering by Eikenhof pompstasie, na chlooraminering by Eikenhof pompstasie en kraanwater by Rustenburg. Mutagenisiteit is verkry met TA100 en TA98 sonder die byvoeging van S9. In die geval van TA100 is 'n swakker reaksie verkry as in die geval met TA98. In al die gevalle is die reaksies verswak met die byvoeging van die S9-mengsel (Tabel 3.1 en Figuur 3.1).

Tabel 3.2 toon die resultate van 'n vergelykende studie tussen gechlloreerde water en water wat ontchloor is. Dit is duidelik dat die mutagenisiteit vernietig is in die geval waar die water ontchloor is.

Vanuit Figuur 3.2 is dit duidelik dat daar 'n toename in die TTHM-konsentrasie is in water in die verdeelstelsel tot by die eindverbruiker. Geen duidelike verskil kon waargeneem word tussen die water voor en na chlooraminering nie. Geen verband kon waargeneem word tussen die DOC-waardes en mutagenisiteit nie (Tabel 3.1).

### 3.5 GEVOLGTREKKING

Hoër mutagenisiteit het voorgekom in water een uur na breekpuntchlorering as in die water direk na breekpuntchlorering. Kleiner volumes water was nodig om mutagenisiteit waar te neem. Kontaktyd tussen die water en chloor het hier 'n rol gespeel (Naicker, 52,p.10). Die TTHM-konsentrasie was in die geval ook hoër. Mutagenisiteit het stelselmatig toegeneem tot by Eikenhof pompstasie voor chlooraminering, moontlik ook as gevolg van die verlengde kontaktyd. Geen toename in die mutagenisiteit na chlooraminering het voorgekom nie en hieruit kan afgelei word dat monochlooramien nie bydra tot die waargenome mutagenisiteit nie. Die effense toename in die mutagenisiteit waargeneem in Rustenburg water kan moontlik wees as gevolg van die addisionele chloreringsproses voordat die water die eindverbruiker bereik.

Die TTHM-konsentrasie en mutagenisiteit het ook hier 'n moontlike verband getoon (Figuur 3.3). Daar is met die toename in die TTHM-konsentrasie ook 'n toename in die mutagenisiteit waargeneem.

## HOOFSTUK 4

### **BEPALING VAN DIE MUTAGENISITEIT IN WATER WAT BEHANDEL IS MET SPESIFIEKE PROSESSE OM NADELIGE CHEMIESE VERBINDINGS TE VERWYDER (GROEP III)**

#### **4.1 WATERMONSTERS**

Die effek van gekorrelde geaktiveerde koolstof (GAC) behandeling op die verlaging van die konsentrasie van moontlike nadelige chemiese verbindings in water, is ondersoek. Die behandeling van water met chloor, chloordioksied of monochlooramien is ook ondersoek. Water afkomstig vanaf die Randwaterraad se suiweringsaanleg by die Barrage is ondersoek. Die volgende watermonsters is geneem:

- Barrage rouwater
- Water na verheldering (besinking en sandfiltrasie) voor GAC behandeling
- Verhelderde water voor GAC behandeling met die byvoeging van chloor
- Verhelderde water voor GAC behandeling met die byvoeging van chloordioksied
- Verhelderde water voor GAC behandeling met die byvoeging van monochlooramien
- Water na GAC behandeling voor chlorering
- Water na GAC behandeling na chlorering
- Water na GAC behandeling met die byvoeging van chloordioksied
- Water na GAC behandeling met die byvoeging van monochlooramien

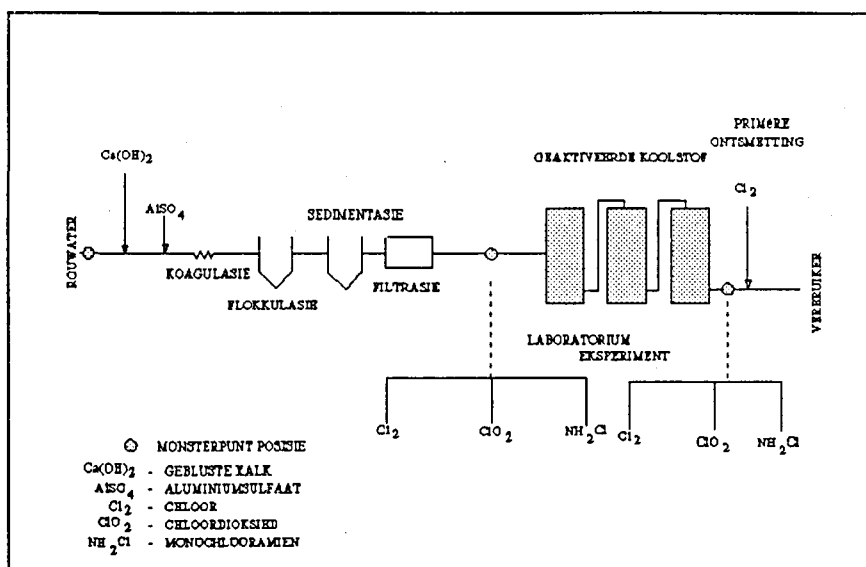
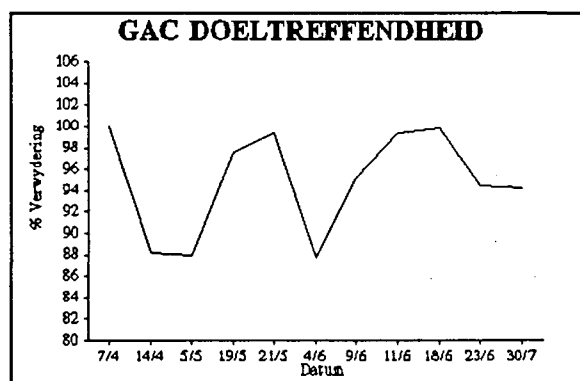


Diagram 4.1 Skematiese voorstelling van die Barrage suiveringsaanleg en die posisie van monsterpunte

## 4.2 EKSPERIMENTELE ONDERSOEK

Honderd liter water van elk van die verskillende bronne is gebruik vir die bereiding van die ekstrakte. Die water is onder stikstofdruk, teen 'n tempo van 60 ml/min, deur 'n glasveselmembraan voorfilter, 'n 0.45  $\mu\text{m}$  sellulose-nitrat membraanfilter en twee kolomme (in serie), gepak met 20 ml XAD-7 hars, gestuur. Vyf en twintig ml DMSO is vir die eluering gebruik. Die konsentrasie faktor was 4000. Doseringstempo vir onderskeidelik chloor, chloordioksied en monochlooramien was 2.5 mg/l en 'n kontaktyd van 24 uur toegelaat voordat met die adsorpsie stap begin is. Volledige chemiese analise asook die bepaling van die TTHM-konsentrasie is elke keer uitgevoer. Ultraviolet absorpsie lesings van die water is geneem om die doeltreffendheid van die verwydering deur die GAC te kontroleer (Figuur 4.1). *Salmonella typhimurium* rasse TA100 en TA98 is gebruik vir die bepaling van mutagenisiteit. Die toetse is uitgevoer met en sonder die byvoeging van die S9-mengsel.



Figuur 4.1 Persentasie verwydering van organiese stowwe deur die koolstofkolomme gemeet aan UV-absorbansie

## 4.3 RESULTATE

### 4.3.1 Verwerkte data

Tabel 4.1 toon die mutagenisiteit waargeneem in watermonsters vanuit Groep III.

**Tabel 4.1 Bepaling van die mutagenisiteit in water behandel met onderskeidelik GAC, chloor, chloordioksied en monochlooramien.**

| Watermonster                         | Vol(1)<br>(X) | TTHM<br>µg/l | XAD-7<br>kolom | MR               |                  |                  |                  |
|--------------------------------------|---------------|--------------|----------------|------------------|------------------|------------------|------------------|
|                                      |               |              |                | TA100            |                  | TA98             |                  |
|                                      |               |              |                | -S9              | +S9              | -S9              | +S9              |
| Barrage rou-<br>water                | 100<br>(4000) | 1            | 1              | 1.0 <sup>a</sup> | 1.0 <sup>a</sup> | 1.2 <sup>a</sup> | 1.0 <sup>a</sup> |
|                                      |               |              | 2              | 1.1 <sup>a</sup> | 0.9 <sup>a</sup> | 1.0 <sup>a</sup> | 1.6 <sup>a</sup> |
| Voor GAC<br>sonder chloor            | 100<br>(4000) | 2            | 1              | 1.0              | 0.9              | 1.2              | 1.1              |
|                                      |               |              | 2              | 0.9              | 0.9              | 1.0              | 1.1              |
| Voor GAC met<br>chloor               | 100<br>(4000) | 53           | 1              | 3.9              | 2.0              | 3.4              | 2.0              |
|                                      |               |              | 2              | 1.9              | 1.1              | 1.5              | 1.3              |
| Na GAC sonder<br>chloor              | 100<br>(4000) | 1            | 1              | 1.0 <sup>d</sup> | 1.0 <sup>d</sup> | 0.9 <sup>d</sup> | 1.1 <sup>d</sup> |
|                                      |               |              | 2              | 0.9 <sup>d</sup> | 1.0 <sup>d</sup> | 0.9 <sup>d</sup> | 1.2 <sup>d</sup> |
| Na GAC met<br>chloor                 | 100<br>(4000) | 29           | 1              | 1.5              | 1.1              | 1.1              | 1.2              |
|                                      |               |              | 2              | 1.0              | 1.0              | 1.0              | 1.1              |
| Voor GAC<br>met chloor-<br>dioksied  | 100<br>(4000) | 2            | 1              | 1.0 <sup>f</sup> | 1.0 <sup>e</sup> | 1.6 <sup>b</sup> | 1.5 <sup>b</sup> |
|                                      |               |              | 2              | 0.9 <sup>f</sup> | 0.8 <sup>e</sup> | 1.4 <sup>b</sup> | 0.9 <sup>b</sup> |
| Na GAC met<br>chloordioksied         | 100<br>(4000) | 4            | 1              | 0.9 <sup>f</sup> | 0.8 <sup>e</sup> | 1.1 <sup>d</sup> | 1.0 <sup>d</sup> |
|                                      |               |              | 2              | 0.8 <sup>f</sup> | 0.9 <sup>e</sup> | 1.1 <sup>d</sup> | 0.9 <sup>d</sup> |
| Voor GAC met<br>monochloor-<br>amien | 100<br>(4000) | 3            | 1              | 0.8 <sup>c</sup> | 0.9 <sup>a</sup> | 1.2 <sup>c</sup> | NG               |
|                                      |               |              | 2              | 1.0 <sup>c</sup> | 1.1 <sup>a</sup> | 1.1 <sup>c</sup> | NG               |
| Na GAC met<br>monochloor-<br>amien   | 100<br>(4000) | 1            | 1              | 0.8 <sup>c</sup> | 1.0 <sup>a</sup> | 1.1 <sup>c</sup> | NG               |
|                                      |               |              | 2              | 0.8 <sup>c</sup> | NG               | 1.0 <sup>c</sup> | NG               |

MR: Mutasie tempo (Moontlik mutagenies as MR  $\geq 2$ ) gemiddeld van 8-13 toetse

X: Konsentrasiefaktor

- S9: sonder die S9-mengsel

+ S9: met die S9-mengsel

a: MR van 1 toets

b: MR die gemiddeld van 2 toetse

c: MR die gemiddeld van 3 toetse

d: MR die gemiddeld van 4 toetse

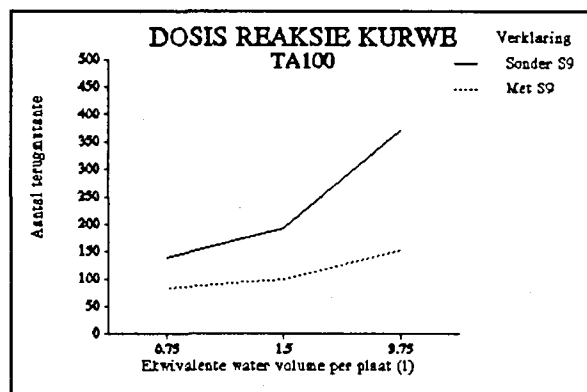
e: MR die gemiddeld van 5 toetse

f: MR die gemiddeld van 6 toetse

XAD-7 kolom - 1: eerste kolom; 2: tweede kolom

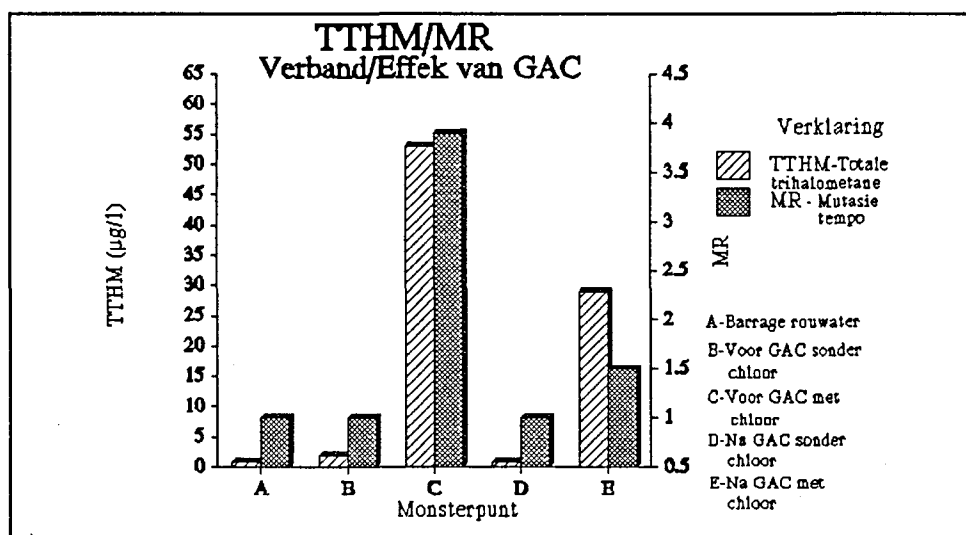
#### 4.3.2 Grafiese voorstelling

Figuur 4.2 toon 'n dosis verwante reaksie wat verkry is in water voor GAC behandeling nadat chloor bygevoeg is. Hierdie is slegs een voorbeeld van die gevalle waar mutagenisiteit waargeneem is.

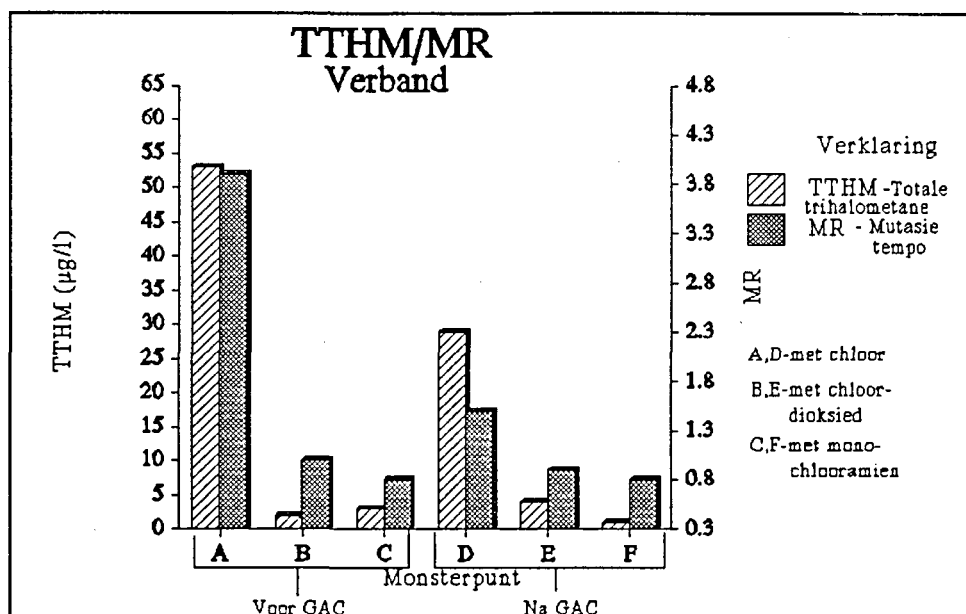


Figuur 4.2 Dosis verwante reaksie verkry met TA100 met die ekstrak uit water voor GAC na die byvoeging van chloor

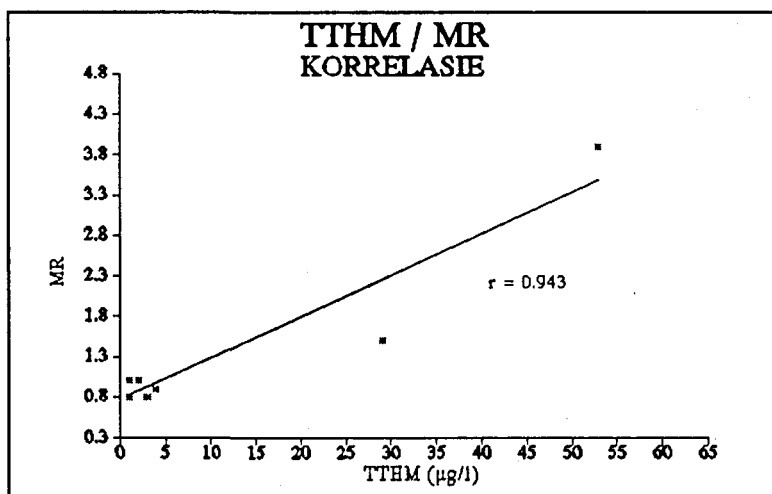
Figure 4.3, 4.4 en 4.5 toon die moontlike verband tussen die TTHM-konsentrasie en mutagenisiteit aan. Die effek van die GAC behandeling kan in Figure 4.3 en 4.4 waargeneem word terwyl die effek van die behandeling met verskillende ontsmettingsmiddels in Figure 4.4 aangetoon word.



Figuur 4.3 Die verband tussen TTHM-konsentrasie en mutagenisiteit in water behandel met GAC en verskillende chloor doserings, getoets met TA100 sonder S9



Figuur 4.4 Die verband tussen TTHM-konsentrasie en mutagenisiteit in water behandel met verskillende ontsmetmiddels, getoets met TA100 sonder S9



Figuur 4.5 Korrelasie tussen die TTHM konsentrasie en mutasie tempo vir TA100 sonder die S9-mengsel

#### 4.4 BESPREKING

Geen mutagenisiteit is in Barrage rouwater, water na verheldering voor koolstof behandeling as sulks, of met die byvoeging van chloordioksied of monochlooramien gevind nie (Tabel 4.1). Daar is ook geen mutagenisiteit in die koolstof behandelde water na die byvoeging van chloor, chloordioksied of monochlooramien gevind nie. Daar is wel in die gevalle waar die koolstof uitgeput geraak het, met chloor as

ontsmettingsmiddel, mutagenisiteit waargeneem. Mutagenisiteit is in die water voor koolstof behandeling met die byvoeging van chloor waargeneem met beide die toetsrasse. In al die gevalle het die byvoeging van die S9-mengsel die mutagenisiteit verswak (Tabel 4.1 en Figuur 4.2). Die waargenome mutagenisiteit in die gechlloreerde koolstof behandelde water is laer as die in die gechlloreerde water voor GAC behandeling. In twee gevalle is mutagenisiteit waargeneem in die water voor koolstof behandeling met die byvoeging van chloordioksied (resultate nie getoon). Die rede hiervoor kan moontlik wees as gevolg van onsuiverhede wat in die chloordioksied oplossing voorgekom het (Monscvitz en Rexing, 50, p.95).

Figuur 4.3 toon die verlaging van THM-verbindings sowel as die mutagenisiteit aan nadat water met koolstof behandel is. Geen THM-verbindings het voorgekom in die Barrage rouwater, water na verheldering voor koolstof behandeling of is gevorm in die gevalle waar water met chloordioksied of monochlooramien behandel is nie (Figuur 4.4). THM-verbindings word wel gevorm waar water met chloor behandel is.

#### **4.5 GEVOLGTREKKING**

Gekorrelde geaktiveerde koolstof is doeltreffend vir die verwydering van organiese voorlopers tot die vorming van THM-verbindings asook ten opsigte van die verwydering van mutagenisiteit. Deurbraak van hierdie stowwe vind plaas indien koolstof uitgeput raak. Chloordioksied en chlooramien kan gebruik word as ontsmettingsmiddels omdat dit nie THM-verbindings vorm nie. 'n Duidelike verband kan waargeneem word tussen die TTHM-konsentrasie en die mutagenisiteit (Figuur 4.5). Met die toename in die TTHM-konsentrasie is daar ook 'n toename in die mutagenisiteit waargeneem.

## HOOFSTUK 5

### GEVOLGTREKKING EN AANBEVELING

#### 5.1 GEMEENSKAPLIKE GEVOLGTREKKING UIT GROEPE I, II EN III

Die resultate uit hierdie ondersoek het duidelik getoon dat mutagenisiteit voorkom indien water met chloor ontsmet word. Ten spyte van die menings van baie navorsers dat chloor as ontsmettingsmiddel vervang moet word met 'n alternatiewe ontsmettingsmiddel, moet in berekening gebring word dat hierdie alternatiewe ook 'n potensiële gesondheidsgevaar vir die mens kan inhou. Osonering vorm aldehyede en bromaat, chlooraminering vorm sianogeenchloried en chloordioksied vorm chloriet en chloraat (Pieterse, 59, p.11). Oor dekades heen het chloor dit self bewys as die beste primêre ontsmettingsmiddel vir die voorkoming van wateroordraagbare siektes. Akute uitbrake van wateroordraagbare siektes en 'n moontlike gesondheidsrisiko as gevolg van die langtermyn blootstelling aan potensieel gevaarlike organiese verbindings, moet teen mekaar opgeweeg word.

In die ondersoek is dit duidelik dat in al die gevalle waar mutagenisiteit waargeneem is, die S9-mengsel hierdie mutagenisiteit verlaag of vernietig het. Dit dui daarop dat die lewerensiemer teenwoordig in die menslike liggaam die mutagenisiteit van moontlike mutagene verlaag of vernietig. Dus is die waargenome mutagenisiteit geen gesondheidsrisiko nie.

'n Moontlike verband tussen die TTHM-konsentrasie en mutagenisiteit is duidelik waarneembaar uit die resultate uit Groep I, II en III. Ander ontsmettingsmiddels soos chloordioksied en chlooramien het geen mutagenisiteit veroorsaak nie. Gekorrelde geaktiveerde koolstof is effektief vir die verwydering van organiese voorlopers tot THM-verbindings. Waar THM-verbindings waargeneem is, was die konsentrasies laer as die aanbevole grens van 100 µg/l. Daaruit kan afgelei word dat die drinkwater soos verskaf deur die Randwaterraad op hierdie stadium geen gesondheidsgevaar vir die mens inhou nie.

## 5.2 AANBEVELINGS

- Die Amestoets word slegs as 'n uitsiftingstoets gebruik. Nadat mutagenisiteit waargeneem is met die Amestoets, behoort die mutagene geïsoleer en geïdentifiseer word. Hierdie stowwe moet dan *in vivo* getoets word en bevestig word as karsinogene.
- Die verband tussen die THM-verbindings en die waargenome mutagenisiteit dui daarop dat die verwydering of verlaging van die verbindings, die probleem van mutagenisiteit kan oplos.
- Osoon as 'n alternatief vir 'n ontsmettingsmiddel, met die oog op verlaging of voorkoming van mutagenisiteit, moet ondersoek word.
- Totale organiese halogene (TOX) bestaan uit vlugtige stowwe (THM-verbindings en ander) en nie-vlugtige stowwe. Hierdie nie-vlugtige stowwe beslaan 'n groot gedeelte van die TOX-verbindings. Daar moet dus ook ondersoek ingestel word na die verband tussen mutagenisiteit en die TOX-verbindings.

## VERWYSINGS

1. AMES, B. N., DURSTON, E., YAMASAKI, E. & LEE, D. Carcinogens are mutagens: A simple test system combining liver homogenates for activation and bacteria for detection. *Proc. Nat. Acad. Sci. USA* 70(8), August 1973: 2281-2285.
2. AMES, B.N. & HAROUN, L. An overview of the *Salmonella* mutagenicity test. In: *Microsome, Drug Oxidations and Chemical Carcinogenesis* (Ed. Coon, M.J., et al) Academic Press. 1980.
3. AMES, B.N., KAMMEN, H.O. & YAMASAKI, E. Hair dyes are mutagenic: Identification of a variety of mutagenic ingredients. *Proc. Nat. Acad. Sci. USA* 72(6), June 1975: 2423-2427.
4. AMES, B.N. & McCANN, J. Validation of the *Salmonella* test: A reply to Rinkus and Legator. *Cancer Research* 41, October 1981: 4192-4203.
5. AMES, B.N., McCANN, J. & YAMASAKI, E. Methods for detecting carcinogens and mutagens with the *Salmonella*/Mammalian-microsome mutagenicity test. *Mutation Research* 31, June 1975: 347-364.
6. BACKLUND, P., KRONBERG, L., PENSAR, G. & TIKKANEN, L. Mutagenic activity in humic water and alum-flocculated humic water treated with alternative disinfectants. *The Science of the Total Environment* 47, 1985: 257-264.
7. BACKLUND, P., WONDERGEM, E., VOOGD, K. & DE JONG, A.D. Mutagenic activity and presence of the strong mutagen 3-chloro-4-(dichloromethyl)-5-hydroxy-2-(5H)-furanone (MX) in chlorinated raw and drinking waters in the Netherlands. *The Science of the Total Environment* 84, March 1989: 273-282.
8. BELLAR, T.A., LICHTENBERG, J.J. & KRONER, R.C. The occurrence of organohalides in chlorinated drinking waters. *Journal AWWA*, December 1974: 703-706.
9. BERNHARDT, H. Strategies of future research in the preparation of drinking water. *Wat. Supply* 6, 1988: 283-292.
10. BRODTMANN, N.V. & RUSSO, P.J. The use of chloramine for reduction of trihalomethanes and disinfection of drinking water. *Journal AWWA*, January 1979: 40-42.
11. BULL, R.J. Carcinogenic and mutagenic properties of chemicals in drinking water. *The Science of the Total Environment* 47, 1985: 385-413.

12. CHADIK, P.A. & AMY, G.L. Removing trihalomethane precursors from various natural waters by metal coagulants. *Journal AWWA*, October 1983: 532-536.
13. CHEH, A.M., SKOCHDOPOLE, J., KOSKI, P. & COLE, L. Nonvolatile mutagens in drinking water: Production by chlorination and destruction by sulfite. *Science* 207, January 1980: 90-92.
14. CLEVINGER, T.E., HEMPHILL, D.D., ROBERTS, K. & MULLINS, W.A. Chemical composition and possible mutagenicity of municipal sludges. *Journal WPCF* 55(12), December 1983: 1470-1475.
15. COTRUVO, J.A. THMs in drinking water. *Environmental Science and Technology* 15(3), March 1981: 268-274.
16. COTRUVO, J.A. Organic micropollutants in drinking water: An overview. *The Science of the Total Environment* 47, 1985: 7-26.
17. CRAGLE, D.L., SHY, C.M., STRUBA, R.J. & SIFF, E.J. A case-control study of colon cancer and water chlorination in North Carolina. In: *Water Chlorination: Chemistry, Environmental Impact and Health Effects*. Vol 5, (Ed. Jolley, R.L. et al), Lewis Public, Chelsea, Mich. 1985.
18. CRAUN, G.F. Surface water supplies and health. *Journal AWWA*, February 1988: 40-52.
19. CRUMP, K.S. & GUESS, H.A. Drinking water and cancer: A review of recent epidemiological findings and assessment of risks. *Ann. Rev. Public Health* 3, 1982: 339-357.
20. DE GREEF, E., MORRIS, J.C., VAN KREIJL, C.F. & MORRA, C.F.H. Health effects in the chemical oxidation of polluted waters. In: *Water Chlorination: Environmental Impact and Health Effects*. Vol 3, (Eds. Jolley, R.L., Brungs, W.A. & Cumming, R.B.) Ann Arbor Science Publishers, Ann Arbor, Mich. 1980.
21. DENKHAUS, R., GRABOW, W.O.K. & PROZESKY, O.W. Removal of mutagenic compounds in a waste water reclamation system evaluated by means of the Ames *Salmonella*/microsome assay. *Prog. Water Technol.* 12, 1980: 571-589.
22. DEVORET, R. Bacterial tests for potential carcinogens. *Scientific American* 241(2), August 1979: 28-37.
23. EVERS, F.W.R. Opening address. *The Science of the Total Environment* 47, 1985: 3-6.
24. FIELDING, M. & HORTH, H. Formation of mutagens and chemicals during water treatment chlorination. *Wat. Supply* 4, 1986: 103-126.

25. FIESSINGER, F., ROOK, J.J. & DUGUET, J.P. Alternative methods for chlorination. *The Science of the Total Environment* 47, 1985: 299-315.
26. GILLIES, M.T. *Drinking water detoxification* New Jersey USA: Noyes data corporation, 1978.
27. GLATZ, B.A. Short-term bioassays for environmental mutagens and carcinogens. *Journal AWWA*, July 1979: 396-402.
28. GRABOW, W.O.K., VAN ROSSUM, P.G., GRABOW, N.A. & DENKHAUS, R. Relationship of the raw water quality to mutagens detectable by the Ames *Salmonella*/microsome assay in a drinking water supply. *Water Research* 15, 1981: 1037-1043.
29. GUTTMAN-BASS, N., BAIREY-ALBUQUERQUE, M., ULITZUR, S., CHARTRAND, A. & RAV-ACHA, C. Effects of chlorine and chlorine dioxide on mutagenic activity of lake Kinnereth water. *Environ. Sci. Technol.* 21, 1987: 252-260.
30. HORTH, H. Identification of mutagens in drinking water. *Aqua* 38, 1989: 80-100.
31. KIER, L.D., YAMASAKI, E. & AMES, B.N. Detection of mutagenic activity in cigarette smoke condensates. *Proc. Nat. Acad. Sci. USA* 71(10), October 1974: 4159-4163.
32. KOOL, H.J. *Organic mutagens and drinking water in the Netherlands*. Wageningen: Landbouwhogeschool, 1983.
33. KOOL, H.J. & HRUBEC, J. The influence of an ozone, chlorine and chlorine dioxide treatment on mutagenic activity in (drinking) water. *Ozone Science and Engineering* 8, March 1986: 217-234.
34. KOOL, H.J., HRUBEC, J., VAN KREIJL, C.F. & PIET, G.J. Evaluation of different treatment processes with respect to mutagenic activity in drinking water. *The Science of the Total Environment* 47, 1985: 229-256.
35. KOOL, H.J. & VAN KREIJL, C.F. Formation and removal of mutagenic activity during drinking water preparation. *Water Research* 18(8), 1984: 1011-1016.
36. KOOL, H.J. VAN KREIJL, C.F., DE GREEF, E. & VAN KRANEN, J. Presence, introduction and removal of mutagenic activity during the preparation of drinking water in the Netherlands. *Environmental Health Perspectives* 46, 1982: 207-214.
37. KRINGSTAD, K.P., LJUNGQUIST, P.O., DE SOUSA, F. & STROMBERG, L.M. On the formation of mutagens in the chlorination of humic acid. *Environ. Sci. Technol.* 17, 1983: 553-555.

38. KUSAKABE, K., ASO, S., HAYASHI, J., ISOMURA, K. & MOROOKA, S. Decomposition of humic acid and reduction of trihalomethane formation potential in water by ozone with UV irradiation. *Water Research* 24(6), 1990: 781-785.
39. LANGI, A. & PRIHA, M. Mutagenicity in pulp and paper mill effluents and in recipient. *Wat. Sci. Tech.* 20(2), 1988: 143-152.
40. LEVIN, D.E., HOLLSTEIN, M., CHRISTMAN, M.F., SCHWIERS, E.A. & AMES, B.N. A new *Salmonella* tester strain (TA102) with A-T base pairs at the site of mutation detects oxidative mutagens. *Proc. Nat. Acad. Sci. USA* 79, December 1982: 7445-7449.
41. LEVIN, D.E., YAMASAKI, E. & AMES, B.N. A new *Salmonella* tester strain, TA97 for the detection of frameshift mutagens. *Mutation Research* 94, 1982: 315-330.
42. LOPER, J.C. Mutagenic effects of organic compounds in drinking water. *Mutation Research* 76, 1980: 241-268.
43. LOPER, J.C., TABOR, M.W., ROSENBLUM, L. & DEMARCO, J. Continuous removal of both mutagens and mutagen-forming potential by an experimental full-scale granular activated carbon treatment system. *Environ. Sci. Technol.* 19(4), 1985: 333-339.
44. MARKWOOD, J.M. Possible carcinogens in water - how serious is the problem. *Water/Engineering and Management*, May 1983: 14,68.
45. MARON, D.M. & AMES, B.N. Revised methods for the *Salmonella* mutagenicity test. *Mutation Research* 113, 1983: 173-215.
46. MARUOKA, S. & YAMANAKA, S. Production of mutagenic substances by chlorination of waters. *Mutation Research* 79, 1980: 381-386.
47. McCANN, J. & AMES, B.N. Detection of carcinogens as mutagens in the *Salmonella*/microsome test: Assay of 300 chemicals: discussion. *Proc. Nat. Acad. Sci. USA* 73(3), March 1976: 950-954.
48. MEIJERS, A.P., ROOK, J.J., SCHULTINK, B., SMEENK, J.G.M.M., VAN DER LAAN, J. & POELS, C.L.M. Objectives and procedures for GAC treatment. *Journal AWWA*, November 1979: 628-637.
49. MONARCA, S., MEIER, J.R. & BULL, R.J. Removal of mutagens from drinking water by granular activated carbon. *Water Research* 17(9), 1983: 1015-1026.
50. MONSCVITZ, J.T. & REXING, D.J. A pilot study of chlorine dioxide use to reduce total trihalomethanes. *Journal AWWA*, February 1981: 94-96.

51. MORRIS, R.D., AUDET, A., ANGELILLO, I.F., CHALMERS, T.C. & MOSTELLER, F. Chlorination, chlorination by-products and cancer: A meta-analysis. *American Journal of Public Health* 82(7), July 1992: 955-963.
52. NAICKER, T.N. A quantitative determination of trihalomethanes (THM's) by a solvent extraction technique. *Imiesa*, February 1990: 5-10,32.
53. NAKAMURO, K., UENO, H. & SAYATO, Y. Mutagenic activity of organic concentrates from municipal river water and sewage effluent after chlorination or ozonation. *Wat. Sci. Tech.* 21, 1989: 1895-1898.
54. NOORDSIJ, A., PUYKER, L.M. & VAN DER GAAG, M.A. The quality of drinking water prepared from bank-filtered river water in the Netherlands. *The Science of the Total Environment* 47, 1985: 273-292.
55. NOOT, D.K., ANDERSON, W.B., DAIGNAULT, S.A., WILLIAMS, D.T. & HUCK, P.M. Evaluating treatment processes with the Ames mutagenicity assay. *Journal AWWA*, September 1989: 87-102.
56. NORMAN, T.S., HARMS, L.L. & LOOYENGA, R.W. The use of chloramines to prevent trihalomethane formation. *Journal AWWA*, March 1980: 176-180.
57. OLIVER, B.G. & SHINDLER, D.B. Trihalomethanes from the chlorination of aquatic algae. *Environmental Science and Technology* 14(12), December 1980: 1502-1505.
58. PIETERSE, M.J. The potential health risk of trihalomethanes in drinking water: a perspective. *South African Journal of Science* 84, March 1988: 166-169.
59. PIETERSE, M.J. Another look at the regulation of disinfection by-products. *S.A. Waterbulletin*, October 1992: 10-11.
60. RAPPAPORT, S.M., RICHARD, M.G., HOLLSTEIN, M.C. & TALCOTT, R.E. Mutagenic activity in organic waste water concentrates. *Environmental Science and Technology* 13(8), August 1979: 957-961.
61. RINKUS, S.J. & LEGATOR, M.S. *Salmonella* revisited: a reply to Ames and McCann. *Cancer Research* 41, October 1981: 4196-4203.
62. ROOK, J.J. Formation of haloforms during chlorination of natural waters. *Water Treat. Exam.* 23, 1974: 234-243.
63. ROOK, J.J. Chlorination reactions of fulvic acids in natural waters. *Environmental Science and Technology* 11(5), May 1977: 478-482.

64. SANCHEZ, P.S., COIMBRAO, A., COELHO, M.C.L. VALENT, G.U. & SATO, M.I.Z. Assessment of mutagenic activity in drinking water from Sao Paulo city, Brazil. *Environmental Toxicology and Water Quality* 7, 1992: 141-155.
65. SCHWARTZ, D.J., SAXENA, J. & KOPFLER, F.C. Water distribution system, a new source of mutagens in drinking waters. *Environmental Science and Technology* 1979: 1138-1147.
66. SCULLY, F.E. & WHITE, W.N. Reactions of chlorine, monochloramine in the GI tract. *Environ. Sci. Technol.* 25(5), 1991:
67. SIMMON, V.F., KAUFMAN, K. & TARDIFF, R.G. Mutagenic activity of chemicals identified in drinking water. *Progress in Genetic Toxicology*, 1977: 249-258.
68. SLOOFF, W. & VAN KREIJL, C.F. Monitoring the rivers Rhine and Meuse in the Netherlands for mutagenic activity using the Ames test in combination with rat or fish liver homogenates. *Aquatic Toxicology* 2, 1982: 89-98.
69. SNOEYINK, V.L. & CHEN, A.S.C. Removal of organic micropollutants by coagulation and adsorption. *The Science of the Total Environment* 47, 1985: 155-167.
70. TOFT, P. The control of organics in drinking water in Canada and the United States. *The Science of the Total Environment* 47, 1985: 45-58.
71. VAN HOOFF, F. Influence of ozonation on direct-acting mutagens formed during drinking water chlorination. In: *Water chlorination: Environmental Impact and Health Effects.*, Vol 4, (Eds. Jolley, R.L. et al), Ann Arbor Science, 1981.
72. VAN STEENDEREN, R.A., PIETERSE, M.J. & BOURNE, D. THM formation in potable waters with reference to related variables and health data basis. *Water S.A.* 17(4), October 1991: 269-272.
73. VAN ROSSUM, P.G., GOVENDER, Y. & MEINTJIES, E. The isolation and identification of mutagens in drinking water. Research Project for the Water Research Commission, September 1990.
74. VAN ROSSUM, P.G., WILLEMSE, J.M., HILNER, C. & ALEXANDER, L. Examination of a drinking water supply for mutagenicity. *Wat. Sci. Tech.* 14, 1982: 163-173.
75. VERSTEEGH, J.F.M., KRAMERS, P.G.N. & VAN GENDEREN, J. Genotoxicity of drinking water - significance and future approach. *J. Water SRT - Aqua* 39(2), 1990: 101-106.

76. ZIERLER, S., DANLEY, R.A. & FEINGOLD, L. Type of disinfectant in drinking water and patterns of mortality in Massachusetts. *Environmental Health Perspectives* 69, 1986: 275-279.
77. ZIMMERMANN, F.K. & TAYLOR-MAYER, R.E. *Mutagenicity Testing in Environmental Pollution Control* New York: Ellis Horwood limited, 1985.
78. ZOETEMAN, B.C.J., HRUBEC, J., DE GREEF, E. & KOOL, H.J. Mutagenic activity associated with by-products of drinking water disinfection by chlorine, chlorine dioxide, ozone and UV-irradiation. *Environmental Health perspectives* 46, 1982: 197-205.

## METODES EN MEDIA

### 1. METODES

#### 1.1 Ekstraksie van organiese stowwe uit water.

Die organiese stowwe in die water is gekonsentreer deur middel van 'n adsorpsie/elueringstegniek. Vir die adsorpsie van stowwe uit water is gebruik gemaak van Amberlite XAD-7 hars (Rohm en Haas, Philadelphia Pa USA).

##### 1.1.1 Skoonmaak van XAD-7 hars

Kommersieël beskikbare hars is nie skoon nie en moet voor gebruik gesuiwer word. Die hars is gesif om 'n eenvormige korrelgrootte te verkry, en is met gedistilleerde water gewas om die natriumchloried en natriumkarbonaat, waarmee dit behandel is te verwyder. Die hars word met dié twee stowwe behandel om bakteriese- en swamgroeï op die harse te voorkom. Die hars is in ekstraksie-tepels in die Soxhlet ekstraheerder geplaas. Daarna is dit opeenvolgend vir 16 uur met metanol, asetonitriël, diëtleter en weer met metanol geëkstraheer. Na ekstraksie is die skoon hars in die erlenmyerfles onder metanol bewaar.

##### 1.1.2 Voorbereiding van harskolomme vir ekstraksie.

Die glasware is met metanol uitgespoel. Twintig ml XAD-7 hars is in die maatsilinder afgemete. 'n Klein stukkie gesilaniseerde glaswol is met 'n tangetjie in die glaskolom geplaas en met die pipet tot onder gedruk. Twee ml methanol is gebruik om die glaswol nat te maak. 'n Klein hoeveelheid van die afgemete hars is op 'n slag met 'n 5 ml pipet, waarvan die punt afgesny is, opgetrek en in die kolom geplaas. Die kolom is van die onderpunt af gevul en daar is gesorg dat daar geen lugborrels in die hars vorm nie. Die laaste bietjie hars wat nie met die pipet opgetrek kon word nie is met metanol uit die maatsilinder uitgespoel. Die hars is met metanol nat gehou totdat die water daardeur gefiltreer is.

##### 1.1.3 Voorbereiding van ekstrakte.

###### 1.1.3.1 Filtrasie deur harskolomme.

Sartorius drukkanne van vlek-vrye staal en drukfilterhouers is gebruik vir die filtrasie van die water deur die harskolomme. Sellulose-nitrat filters (0.45  $\mu$ m) van 100 mm in deursnee is gebruik om die bakterieë uit die water te verwyder en 'n glasveselmembraan voorfilter van 90 mm in deursnee om die troebelheid te verwyder, is gebruik. Stikstofdruk is gebruik om die water deur filters en harskolomme te beweeg. Vloeimeters en stikstofdruk is so gestel dat dit 'n vloeitempo van 60 ml/min gegee het. Die vloeitempo is tydens filtrasie gekontroleer en waar nodig is die voorfilters en membraanfilters tydens die proses vervang.

### 1.1.3.2 Eluering van harskolom.

Al die glasware gebruik vir die eluering van harskolom is deeglik met Extran gewas en met gedistilleerde water uitgespoel. Nadat dit droog was is dit oornag by 400 °C afgebak. Daarna is dit vir 15 minute by 121 °C geoutoklaveer. Nadat die totale volume water nodig deur die harskolom gefiltreer is, is kolomme ontkoppel en die water wat nog in die kolom aanwesig was, met stikstofdruk uit die kolom gepeers. Daar moes gesorg word dat die hars nie heeltemal droog word nie. Vyf en twintig ml DMSO is gebruik om die organiese stowwe te elueer. Tien ml DMSO is in die kolom gegooi. Die DMSO is toegelaat om deur die hars af te beweeg tot min of meer aan die onderkant van die kolom waarna die kraan van die kolom dan toegedraai is. Dit is vir 15 minute so gelaat. Daarna is die kraan oopgedraai. Die res van die DMSO word stelselmatig in die kolom gegooi terwyl die kraan oopgehou en die eluaat in 'n steriele houer opgevang is. Die ekstrakte is dan onmiddellik vir die aanwesigheid van mutagene getoets.

### 1.1.3.3 Toets van skoongemaakte hars.

Elke lot hars wat skoongemaak is, is vir die moontlike aanwesigheid van onsuiverhede en mutagene getoets. 'n Glaskolom is met 20 ml hars gevul en die metanol is uit die hars gedreineer deur ongeveer 200 ml steriele suiwer water (water vanaf 'n Mili-Q-sisteem) deur die hars te filtreer. Vyf en twintig ml DMSO is gebruik om die hars te elueer. Die ekstrak is dan ook vir die aanwesigheid van mutagene getoets.

## 1.2 Amestoets.

Al die glasware wat gebruik is vir die uitvoering van die Amestoets is deeglik gewas met Extran, gespoel met gedistilleerde water en oornag afgebak by 400 °C. Die dag voordat die toets gedoen is, is die minimale agar voorberei en al die plate gemerk. Die toetsrasse is ongeveer 12 ure voordat die toets gedoen word, uit die vloeibare stikstof gehaal, laat ontdooi en geïnkuleer in 70 ml voedingsop. Die kulture is dan geïnkubeer, op 'n skudmasjien, by 37 °C. Met die uitvoering van die toets is gebruik gemaak van 'n proefbuis-verhittingseenheid. Dit is by 45 °C ingestel. Die aantal organismes per ml van elke kultuur is met die gietplaat metode bepaal. Terwyl die toets gedoen word, word die kulture op ys gehou. Die bolaag agar is versprei in 2 ml hoeveelhede en is warm gehou in 'n oond. Elke ekstrak is in triplikaat in 0.1, 0.2 en 0.5 ml hoeveelhede getoets met en sonder die byvoeging van die S9-mengsel. Nadat die buis geïnkuleer is met die toetsras, ekstrak en S9-mengsel is buisies goed gemeng en gegiet bo-oor die minimale agar plaat. Dit is dan laat staan om te stol en plate is geïnkubeer by 37 °C vir 48 uur. Na 48 uur is die aantal kolonies op elke plaat getel en bereken as die aantal terugmutante. Met elke toets is positiewe kontroles vir elke toetsras gedoen asook die eienskappe van elke toetsras is gekontroleer.

## 2. MEDIA

### 2.1 Oplossings vir die voorbereiding van minimale agar en bolaag agar

#### 2.1.1 VOGEL-BONNER OPLOSSING (50X)

|                                                                                  |        |
|----------------------------------------------------------------------------------|--------|
| Warm gedistilleerde water (45 °C)                                                | 580 ml |
| Magnesiumsulfaat ( $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ )                   | 10 g   |
| Sitroensuur monohidraat                                                          | 100 g  |
| Kaliumfosfaat, dibasies(anhidrisies) ( $\text{K}_2\text{HPO}_4$ )                | 500 g  |
| Natriumammoniumfosfaat ( $\text{NaNH}_4\text{HPO}_4 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ ) | 175 g  |

Voeg die gedistilleerde water in 'n platboomkookfles waarin 'n magneet is. Plaas dit op 'n magnetiese roerder en verhit die water tot 45 °C. (Minder water as wat deur Maron en Ames aanbeveel word, word gebruik. Daar is gevind dat met die aanbevole volume water, die totale volume nadat die soute opgelos is, meer as 'n liter is.) Voeg die soute in die volgorde soos aangedui by die warm gedistilleerde water. Elkeen van die soute moet volkome opgelos wees voordat die volgende een bygevoeg word. Laat die oplossing afkoel en gooi dit dan in 'n een liter volumetriese fles. Vul die volume tot een liter aan met gedistilleerde water. Versprei die oplossing in medisyne bottels of erlenmeyerflesse met skroefproppe. Die houers moet net half gevul word. Draai die proppe los op en outoklaveer by 121 °C vir 20 minute.

#### 2.1.2 40% Glukose oplossing

|                       |         |
|-----------------------|---------|
| Glukose               | 400 g   |
| —Gedistilleerde water | 1000 ml |

Weeg die glukose af en voeg dit by ongeveer 500 ml gedistilleerde water in 'n glasbeker. Verhit die oplossing effens op 'n magnetiese roerder om op te los. Laat afkoel en gooi die oplossing in 'n een liter volumetriese fles. Vul die oplossing aan tot een liter met gedistilleerde water. Filtersteriliseer die oplossing in 'n steriele drukfilterhouer onder stikstofdruk. Gebruik 'n 0.22  $\mu\text{m}$  membraanfilter. Bewaar die oplossing in steriele skroefprop-erlenmeyerflesse in die yskas tot voor gebruik.

### 2.1.3 Minimale agarplate

|                                       |        |
|---------------------------------------|--------|
| Bacto agar                            | 15 g   |
| Gedistilleerde water                  | 930 ml |
| Steriele Vogel-Bonner oplossing (50X) | 20 ml  |
| Steriele 40% Glukose oplossing        | 50 ml  |

Gooi die agar by 930 ml gedistilleerde water in 'n twee liter platboomkookfles met 'n magneet. Bedek opening met foelie. Outoklaveer by 121 °C vir 20 minute. Laat agar effens afkoel. Plaas die agar op 'n magnetiese roerder en voeg eers die 20 ml Vogel-Bonner oplossing en dan die 50 ml glukose oplossing asepties by terwyl dit roer. Versprei 30 ml hoeveelhede in petribakkies (90 mm). Laat stol en laat die bakkies vir 20 minute half oop in die laminêre vloei-eenheid om droog te word.

### 2.1.4 0.5 mM Histidien/biotien oplossing

|                              |         |
|------------------------------|---------|
| D-Biotien (F.W. 247.3)       | 30.9 mg |
| L-Histidien.HCl (F.W. 191.7) | 24.0 mg |
| Gedistilleerde water         | 250 ml  |

Voeg die biotien by die water in 'n skroefprop-erlenmeyerfles en verhit om op te los. Voeg daarna die histidien by. Outoklaveer by 121 °C vir 20 minute. Bewaar in die yskas tot voor gebruik.

### 2.1.5 Bolaag agar

|                        |         |
|------------------------|---------|
| Agar (Difco)           | 6 g     |
| Natriumchloried (NaCl) | 5 g     |
| Gedistilleerde water   | 1000 ml |

Voeg agar en NaCl by die gedistilleerde water in 'n skroefprop-erlenmeyerfles. Outoklaveer by 121°C vir 20 minute. Laat dit afkoel tot ongeveer 50 °C en voeg 10 ml van die 0.5 mM histidien/biotien oplossing by elke 100 ml bolaag agar. Hou die agar in 'n wateroond by 45 °C totdat dit in 2 ml hoeveelhede in buise vir die toets versprei word.

## 2.2 Oplossings vir die voorbereiding van die S9-mengsel

### 2.2.1 Soutoplossing

|                                                                 |                                   |
|-----------------------------------------------------------------|-----------------------------------|
| Kaliumchloried (KCl)                                            | 61.5 g                            |
| Magnesiumchloried ( $\text{MgCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ ) | 40.7 g                            |
| Gedistilleerde water                                            | Maak tot 'n volume van 500 ml op. |

Gooi 'n bietjie gedistilleerde water in 'n 500 ml volumetriese fles en voeg die twee soute by die water. Vul aan tot 500 ml met gedistilleerde water op. Plaas die oplossing in 'n skroefprop-erlenmeyerfles. Outoklaveer by 121 °C vir 20 minute. Bewaar die oplossing in die yskas tot voor gebruik.

### 2.2.2 0.2 M Natriumfosfaat buffer pH 7.4

Die buffer bestaan uit twee oplossings wat in 'n bepaalde verhouding bymekaar gevoeg word.

**Oplossing A:** 0.2 M Natrium dihidrogeen fosfaat ( $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ ) oplossing. Weeg 13.8 g  $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$  af en voeg in 'n 500 ml volumetriese fles met 'n bietjie water. Los die sout op en maak tot 500 ml met gedistilleerde water op.

**Oplossing B:** 0.2 M Di-natrium hidrogeen fosfaat ( $\text{Na}_2\text{HPO}_4$ ) oplossing. Weeg 14.2 g  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$  af en voeg in 'n volumetriese fles met 'n bietjie water. Los die sout op en maak tot 500 ml met gedistilleerde water op.

Voeg nou 60 ml van oplossing A en 440 ml van oplossing B bymekaar in 'n 600ml glasbeker. Bepaal die pH van die oplossing. Indien die pH te laag is word dit met oplossing B ingestel tot pH 7.4. Indien die pH te hoog is, word oplossing A gebruik om die pH in te stel. Gooi die oplossing in 'n skroefprop-erlenmeyerfles en outoklaveer by 121 °C vir 20 minute. Bewaar in die yskas tot voor gebruik. Hierdie buffer word in die voorbereiding van die S9-mengsel gebruik.

### 2.2.3 1 M Nikotienadenien-dinukleotiedfosfaat (NADP) oplossing

|                               |        |
|-------------------------------|--------|
| NADP (F.W. 765.4)             | 766 mg |
| Steriele gedistilleerde water | 10 ml  |

Weeg NADP in 'n steriele beker af. Voeg die steriele gedistilleerde water met 'n steriele pipet by. Twee ml hoeveelhede word per toets in die S9-mengsel gebruik. Groter volumes van die oplossing kan voorberei word. Dit word in 1 ml hoeveelhede in cryobuise versprei en in die vrieskas gevries. Die NADP oplossing kan vir 6 maande in die vrieskas bewaar word.

#### 2.2.4 1 M Glukose-6-fosfaatoplossing (G-6-P)

|                               |        |
|-------------------------------|--------|
| G-6-P                         | 2.82 g |
| Steriele gedistilleerde water | 10 ml  |

Weeg die G-6-P in 'n steriele beker af. Voeg die gedistilleerde water by en los op. Versprei in 0.3 ml hoeveelhede in steriele cryobuise en bewaar in die vrieskas tot voor gebruik. Dit kan vir 6 maande in die vrieskas bewaar word.

#### 2.2.5 S9-mengsel (Rotlewer mikrosomoom ensieme en ko-faktore)

|                                        |          |
|----------------------------------------|----------|
| Rotlewer S9 (aroclor-1254-geïnduseerd) | 2 ml     |
| MgCl <sub>2</sub> -KCl soutoplossing   | 1 ml     |
| 1 M Glukose-6-fosfaat oplossing        | 0.25 ml  |
| 0.1 M NADP oplossing                   | 2 ml     |
| 0.2 M fosfaat buffer, pH 7.4           | 25 ml    |
| Steriele gedistilleerde water          | 19.75 ml |
| Hoeveelheid S9-mengsel per plaat       | 0.5 ml   |

Haal die rotlewer S9 uit die vloeibare stikstof en laat ontdooi. Haal die NADP en G-6-P oplossings uit die vrieskas en laat ontdooi. Al die ander oplossings word in die yskas gehou totdat die mengsel voorberei word. Die S9-mengsel moet altyd in ys koud gehou word. Voeg nou die verskillende oplossings in die omgekeerde volgorde as aangegee in steriele houer. Die rotlewer word heel laaste by die gebufferde oplossing gevoeg. Die S9-mengsel moet tydens gebruik in ys gehou word. S9 wat oorbly na die toets word geoutoklaveer en weggegooi. Dit kan nie weer gebruik word nie. Die oplossing moet vars, net voor gebruik, voorberei word en al die oplossings moet koud wees wanneer die S9-mengsel voorberei word. Die S9 moet vir aktiwiteit sowel as steriliteit getoets word tydens die uitvoering van die toets.

### 2.3 Oplossings vir die kontrolering van die eienskappe van die toetsrasse

#### 2.3.1 Ampisillien oplossing (8 mg/ml)

|                               |        |
|-------------------------------|--------|
| Ampisillien trihidraat        | 0.8 g  |
| Natriumhidroksied (NaOH)      | 0.2 g  |
| Steriele gedistilleerde water | 500 ml |

Weeg die NaOH in 'n steriele beker af. Voeg 'n klein bietjie steriele water in 'n 250 ml volumetriese fles en voeg die NaOH daarby. Los dit op en vul tot 250 ml met steriele water aan. Weeg die ampisillien in 'n steriele beker af. Meet 50 ml van die 0.02 M NaOH oplossing met 'n steriele maatsilinder in 'n steriele skroefprop-erlenmeyerfles af. Voeg die ampisillien by. Voeg res van die water by en bewaar die oplossing in die yskas. Die ampisillien oplossing word in die voorbereiding van voedingsagarplate gebruik.

### 2.3.2 Kristalviolet oplossing (0.1%)

|                      |        |
|----------------------|--------|
| Kristalviolet        | 0.1 g  |
| Gedistilleerde water | 100 ml |

Weeg die kristalviolet af en los in die gedistilleerde water op. Bewaar in 'n skroefprop bottel in die yskas. Draai die bottel in foelie toe om die oplossing teen lig te beskerm.

### 2.3.3 0.1 mM L-Histidien HCl oplossing

|                               |        |
|-------------------------------|--------|
| L-Histidien monohydrochloried | 2.1 g  |
| Gedistilleerde water          | 100 ml |

Weeg die histidien af en voeg by die gedistilleerde water in 'n skroefprop-erlenmeyerfles. Outoklaveer by 121 °C vir 20 minute. Bewaar in die yskas tot voor gebruik.

### 2.3.4 0.5 mM D-Biotien oplossing

|                      |         |
|----------------------|---------|
| D-Biotien            | 0.012 g |
| Gedistilleerde water | 100 ml  |

Weeg die biotien af en voeg by die gedistilleerde water in 'n skroefprop-erlenmeyerfles. Verhit effens om op te los. Outoklaveer by 121 °C vir 20 minute. Bewaar in die yskas tot voor gebruik. Die histidien en biotien oplossings word gebruik om histidien/biotien minimale agar plate voor te berei.

### 2.3.5 Histidien/biotien minimale agar plate (HB<sup>+</sup> plate)

|                             |         |
|-----------------------------|---------|
| Minimale agar plaat         | 2 plate |
| 0.1 M L-Histidien oplossing | 0.1 ml  |
| 0.5 mM D-Biotien oplossing  | 0.1 ml  |

Versprei 0.1 ml per plaat van albei die oplossings met 'n steriele glasstafie. Laat die plate goed droog word.

## 2.4 Mutageen oplossings

### 2.4.1 Natriumasied oplossing ( $\text{NaN}_3$ )

|                      |        |
|----------------------|--------|
| Natriumasied         | 0.1 g  |
| Gedistilleerde water | 100 ml |

Weeg die  $\text{NaN}_3$  af en los in die gedistilleerde water op. Bewaar in 'n erlenmeyerfles met 'n skroefprop in die yskas. Dit word as toetsmutageen vir TA100 gebruik. 0.1 ml van die oplossing word op 'n steriele filtreerpapierskyfie gedrup.

### 2.4.2 2-Nitrofluoreen oplossing ( $\text{C}_{13}\text{H}_9\text{NO}_2$ )

|                 |        |
|-----------------|--------|
| 2-Nitrofluoreen | 0.1 g  |
| DMSO            | 100 ml |

Weeg 2-Nitrofluoreen af en los op in die DMSO. Versprei in 1 ml hoeveelhede in cryobuise en vries tot voor gebruik. Dit word as toetsmutageen vir TA98 gebruik. 0.1 ml van die oplossing word op 'n steriele filtreerpapierskyfie gedrup.

### 2.4.3 2-Aminofluoreen oplossing ( $\text{C}_{13}\text{H}_{11}\text{N}$ )

|                 |        |
|-----------------|--------|
| 2-Aminofluoreen | 0.1 g  |
| DMSO            | 100 ml |

Weeg die 2-Aminofluoreen af en los dit in die DMSO op. Versprei 1 ml hoeveelhede in cryobuise en vries tot voor gebruik. 2-Aminofluoreen is 'n toetsmutageen wat slegs mutagenies is indien dit saam met die S9-mengsel gebruik word. Dit word dus gebruik om die S9 aktiwiteit te kontroleer.

# VOLLEDIGE DATA

Tabel 1 (Groep I)

| Watermonster   | Vol(1)<br>(X) | XAD-7<br>kolom | MR    |     |      |     |      |     |       |     |
|----------------|---------------|----------------|-------|-----|------|-----|------|-----|-------|-----|
|                |               |                | TA100 |     | TA98 |     | TA97 |     | TA102 |     |
|                |               |                | -S9   | +S9 | -S9  | +S9 | -S9  | +S9 | -S9   | +S9 |
| Kliprivier     | 80<br>(2000)  | 1              | 0.7   | 0.8 | 0.9  | GR  | 1.5  | 1.4 | 0.6   | 0.8 |
|                |               | 2              | 0.8   | 1.0 | 0.9  | GR  | 1.3  | 0.9 | 1.0   | 1.0 |
|                | 120<br>(3000) | 1              | 0.9   | 0.8 | 1.2  | GR  | 1.0  | 1.0 | 0.7   | 0.7 |
|                |               | 2              | 1.1   | 1.0 | 0.7  | GR  | GR   | GR  | 1.0   | 0.6 |
|                | 160<br>(4000) | 1              | 0.4   | 0.9 | 0.8  | GR  | GR   | GR  | 1.1   | 1.3 |
|                |               | 2              | 1.2   | 0.8 | 1.1  | GR  | GR   | GR  | 1.3   | 1.0 |
|                | 260<br>(6500) | 1              | 0.9   | 0.7 | 1.0  | 1.0 | 0.6  | 0.6 | 1.0   | 0.6 |
|                |               | 2              | 1.2   | 0.9 | 1.3  | 1.2 | 0.9  | 0.7 | 1.0   | 1.0 |
| Vaaldam        | 40<br>(1000)  | 1              | NG    | NG  | NG   | NG  | NG   | NG  | NG    | NG  |
|                |               | 2              | 1.1   | 1.1 | 0.6  | GR  | 0.8  | 1.3 | 0.8   | 0.6 |
|                | 80<br>(2000)  | 1              | 0.8   | 0.9 | 1.0  | GR  | 1.5  | 0.9 | 0.6   | 0.8 |
|                |               | 2              | 1.0   | 0.8 | 1.3  | GR  | 1.3  | 1.1 | 1.3   | 1.1 |
|                | 120<br>(3000) | 1              | 0.8   | 1.0 | 0.8  | GR  | GR   | GR  | 1.6   | 1.2 |
|                |               | 2              | 0.8   | 0.6 | T    | GR  | GR   | GR  | 0.9   | 0.7 |
|                | 200<br>(5000) | 1              | 0.5   | 0.6 | 1.0  | 0.7 | 0.5  | 0.6 | 0.6   | 0.8 |
|                |               | 2              | 0.7   | 0.7 | 1.0  | 0.8 | 0.7  | 0.9 | 1.4   | 0.9 |
|                | 200<br>(5000) | 1              | 0.7   | 0.7 | 1.0  | 0.7 | 0.8  | 0.8 | 0.8   | 0.8 |
|                |               | 2              | 0.8   | 0.7 | 1.2  | 1.1 | 0.8  | 0.9 | 1.0   | 1.0 |
| Na karbonering | 40<br>(1000)  | 1              | 0.7   | 0.7 | 0.7  | 1.1 | 1.1  | GR  | 0.8   | 0.7 |
|                |               | 2              | 0.6   | 0.8 | 0.8  | 0.9 | 1.0  | GR  | 1.0   | 0.8 |
|                | 80<br>(2000)  | 1              | 0.8   | 1.0 | 0.8  | GR  | 0.7  | 1.3 | 0.8   | 0.7 |
|                |               | 2              | 1.0   | 0.9 | 0.9  | GR  | 1.0  | 1.0 | 0.9   | 0.8 |
|                | 120<br>(3000) | 1              | 0.8   | 1.0 | 1.6  | 1.3 | 1.0  | 1.3 | 1.1   | 1.0 |
|                |               | 2              | 0.9   | 1.2 | 1.0  | GR  | GR   | GR  | 1.5   | 1.6 |
|                | 200<br>(5000) | 1              | 0.9   | 1.0 | 1.0  | 1.2 | 1.1  | 1.3 | 0.7   | 0.6 |
|                |               | 2              | 0.9   | 0.9 | 1.0  | 1.3 | 0.9  | 0.8 | 1.1   | 0.9 |

Tabel 1 Vervolg

| Watermonster             | Vol(1)<br>(X) | XAD-7<br>kolom | TA100 |     | MR<br>TA98 |     | TA97 |     | TA102 |     |
|--------------------------|---------------|----------------|-------|-----|------------|-----|------|-----|-------|-----|
|                          |               |                | -S9   | +S9 | -S9        | +S9 | -S9  | +S9 | -S9   | +S9 |
| Na sandfil-<br>filtrasie | 40<br>(1000)  | 1              | 0.7   | 1.0 | 0.7        | GR  | 0.7  | 1.1 | 0.9   | 0.7 |
|                          |               | 2              | 0.7   | 1.0 | 0.8        | GR  | 1.0  | 1.1 | 0.9   | 0.8 |
|                          | 80<br>(2000)  | 1              | 0.8   | 0.8 | 0.8        | GR  | GR   | GR  | 0.7   | 0.7 |
|                          |               | 2              | 1.1   | 1.0 | 0.7        | GR  | GR   | GR  | 0.9   | 0.7 |
|                          | 100<br>(2500) | 1              | 0.7   | 1.1 | 1.4        | 0.8 | 0.6  | 0.9 | 0.9   | 1.0 |
|                          |               | 2              | 0.9   | 0.9 | 1.0        | 0.9 | 0.7  | 1.0 | 1.1   | 1.0 |
|                          | 200<br>(5000) | 1              | 0.9   | 0.9 | 1.3        | 1.5 | 1.1  | 0.7 | 1.1   | 0.7 |
|                          |               | 2              | 1.0   | 1.1 | 1.0        | 0.9 | 0.6  | 0.2 | 0.8   | 0.8 |
|                          | 120<br>(3000) | 1              | 1.1   | 1.0 | 1.4        | 1.1 | 1.3  | GR  | 0.6   | 0.6 |
|                          |               | 2              | 1.0   | 1.0 | 1.0        | 1.2 | 1.2  | GR  | 0.9   | 0.8 |
| Direk na<br>breekpunt-   | 160<br>(4000) | 1              | 1.6   | 1.1 | 1.4        | GR  | GR   | GR  | 1.0   | 0.7 |
|                          |               | 2              | 1.5   | 1.0 | 1.2        | GR  | GR   | GR  | 1.2   | 0.7 |
|                          | 200<br>(5000) | 1              | 1.3   | 1.2 | 2.5        | 2.2 | 0.7  | 1.4 | 1.1   | 1.0 |
|                          |               | 2              | 1.4   | 1.4 | 1.7        | 1.0 | 1.2  | 1.1 | 1.3   | 1.0 |
|                          | 300<br>(7500) | 1              | 2.3   | 1.1 | 2.3        | 2.1 | 2.1  | 1.5 | 1.4   | 1.0 |
|                          |               | 2              | 1.3   | 0.8 | 1.9        | 1.3 | 1.4  | 1.3 | 1.0   | 1.0 |
|                          | 300<br>(7500) | 1              | 1.9   | 1.3 | 1.4        | 1.4 | 1.5  | 1.4 | 0.8   | 0.9 |
|                          |               | 2              | 1.2   | 1.1 | 1.0        | 1.1 | 1.1  | 1.0 | 0.8   | 1.0 |

Tabel 2 (Groep II)

| Watermonster                        | Vol(1)<br>(X) | XAD-7<br>kolom | MR    |     |      |     |
|-------------------------------------|---------------|----------------|-------|-----|------|-----|
|                                     |               |                | TA100 |     | TA98 |     |
|                                     |               |                | -S9   | +S9 | -S9  | +S9 |
| Een uur na breek-<br>puntchlorering | 120           | 1              | 2.1   | 1.4 | 1.4  | 0.6 |
|                                     | (4800)        | 2              | 1.8   | 1.2 | 1.3  | 0.9 |
|                                     | 80*           | 1              | 1.0   | 1.2 | 1.4  | 1.3 |
|                                     | (3200)        | 2              | 1.2   | 1.4 | 1.0  | 1.0 |
|                                     | 80*           | 1              | 1.2   | NG  | 0.9  | NG  |
|                                     | (3200)        | 2              | 1.0   | NG  | 1.0  | NG  |
|                                     | 120*          | 1              | 1.2   | NG  | 1.8  | NG  |
|                                     | (4800)        | 2              | 1.2   | NG  | 0.9  | NG  |
|                                     | 120*          | 1              | 1.1   | NG  | 1.1  | NG  |
|                                     | (4800)        | 2              | 0.9   | NG  | 0.9  | NG  |
|                                     | 120           | 1              | 2.0   | 1.4 | 3.2  | 2.0 |
|                                     | (4800)        | 2              | 1.4   | 1.1 | 1.3  | 1.4 |
|                                     | 140           | 1              | 1.2   | 1.1 | 3.0  | 1.8 |
|                                     | (5600)        | 2              | 1.1   | 0.9 | 1.6  | 1.5 |
|                                     | 140           | 1              | 1.7   | 1.5 | 2.0  | 2.0 |
|                                     | (5600)        | 2              | 0.9   | 1.3 | 1.1  | 1.1 |
| Voor chlooraminering                | 140           | 1              | 1.8   | 1.2 | 2.7  | 1.2 |
|                                     | (5600)        | 2              | 1.1   | 1.0 | 1.9  | 1.1 |
|                                     | 120           | 1              | 1.8   | 1.1 | 1.0  | 1.3 |
|                                     | (5600)        | 2              | 1.1   | 1.6 | 1.9  | 0.8 |
|                                     | 120*          | 1              | 2.1   | 1.2 | 1.8  | 1.0 |
|                                     | (5600)        | 2              | 1.9   | 1.5 | 1.4  | 1.0 |
|                                     | 80*           | 1              | 1.3   | NG  | 1.0  | NG  |
|                                     | (3200)        | 2              | 1.0   | NG  | 1.0  | NG  |
|                                     | 120*          | 1              | 1.2   | NG  | 1.3  | NG  |
|                                     | (4800)        | 2              | 1.0   | NG  | 1.2  | NG  |
|                                     | 120*          | 1              | 1.2   | NG  | 0.5  | NG  |
|                                     | (4800)*       | 2              | 1.3   | NG  | 1.2  | NG  |
|                                     | 140           | 1              | 2.6   | 1.5 | 2.8  | 1.9 |
|                                     | (5600)        | 2              | 1.5   | 1.1 | 1.1  | 1.3 |
|                                     | 140           | 1              | 1.5   | 1.1 | 3.1  | 1.7 |
|                                     | (5600)        | 2              | 0.7   | 0.8 | 1.5  | 1.4 |
|                                     | 140           | 1              | 2.0   | 1.4 | 2.8  | 1.9 |
|                                     | (5600)        | 2              | 1.2   | 2.0 | 1.2  | 1.5 |
|                                     | 140           | 1              | 2.0   | 1.1 | 2.7  | 1.3 |
|                                     | (5600)        | 2              | 1.0   | 0.8 | 1.6  | 0.9 |

Tabel 2 Vervolg

| Watermonster       | Vol(1)<br>(X) | XAD-7<br>kolom | MR    |     |      |     |
|--------------------|---------------|----------------|-------|-----|------|-----|
|                    |               |                | TA100 |     | TA98 |     |
|                    |               |                | -S9   | +S9 | -S9  | +S9 |
| Na chlooraminering | 120           | 1              | 1.3   | 1.5 | 1.0  | 1.3 |
|                    | (4800)        | 2              | 1.2   | 1.1 | 1.3  | 1.0 |
|                    | 120*          | 1              | 2.3   | 1.7 | 1.6  | 1.1 |
|                    | (4800)        | 2              | 1.0   | 1.1 | 1.2  | 0.8 |
|                    | 120*          | 1              | 0.9   | NG  | 1.3  | NG  |
|                    | (4800)        | 2              | 1.1   | NG  | 0.8  | NG  |
|                    | 120*          | 1              | 1.2   | NG  | 1.6  | NG  |
|                    | (4800)        | 2              | 1.0   | NG  | 1.1  | NG  |
|                    | 120*          | 1              | 1.1   | NG  | 1.4  | NG  |
|                    | (4800)        | 2              | 0.9   | NG  | 1.0  | NG  |
|                    | 140           | 1              | 3.2   | 1.8 | 3.4  | 2.2 |
|                    | (5600)        | 2              | 1.6   | 1.1 | 1.2  | 1.3 |
|                    | 140           | 1              | 1.5   | 1.2 | 3.1  | 1.9 |
|                    | (5600)        | 2              | 0.9   | 1.1 | 2.1  | 1.7 |
|                    | 140           | 1              | 1.5   | 1.4 | 2.4  | 2.2 |
|                    | (5600)        | 2              | 1.3   | 1.2 | 1.3  | 1.5 |
| Rustenburg         | 140           | 1              | 1.6   | 1.0 | 2.8  | 1.4 |
|                    | (5600)        | 2              | 1.0   | 0.9 | 1.6  | 1.1 |
|                    | 120           | 1              | 1.1   | 1.4 | 1.9  | 1.1 |
|                    | (4800)        | 2              | 1.4   | 1.3 | 1.5  | 0.7 |
|                    | 80            | 1              | 2.2   | 1.7 | 1.3  | 1.1 |
|                    | (3200)        | 2              | 1.6   | 1.7 | 1.2  | 0.9 |
|                    | 80*           | 1              | 1.1   | NG  | 1.1  | NG  |
|                    | (3200)        | 2              | 1.1   | NG  | 0.9  | NG  |
|                    | 120*          | 1              | 1.4   | NG  | 1.8  | NG  |
|                    | (4800)        | 2              | 1.3   | NG  | 1.1  | NG  |
|                    | 100*          | 1              | 1.0   | NG  | 1.7  | NG  |
|                    | (4000)        | 2              | 1.1   | NG  | 1.2  | NG  |
|                    | 140           | 1              | 2.3   | 1.5 | 3.1  | 2.4 |
|                    | (5600)        | 2              | 1.6   | 1.3 | 1.2  | 1.4 |
|                    | 140           | 1              | 1.3   | 1.0 | 3.5  | 2.0 |
|                    | (5600)        | 2              | 1.1   | 0.9 | 1.7  | 1.2 |
|                    | 140           | 1              | 1.7   | 1.4 | 2.8  | 2.3 |
|                    | (5600)        | 2              | 1.0   | 1.2 | 1.5  | 1.2 |
|                    | 140           | 1              | 1.7   | 1.1 | 4.2  | 1.9 |
|                    | (5600)        | 2              | 1.3   | 1.0 | 2.0  | 1.3 |

Tabel 3 (Groep III)

| Watermonster           | Vol(1)<br>(X)  | XAD-7<br>kolom | TA100 |     | MR<br>TA98 |     |
|------------------------|----------------|----------------|-------|-----|------------|-----|
|                        |                |                | -S9   | +S9 | -S9        | +S9 |
| Barrage rouwater       | 60<br>(2400)   | 1              | 1.0   | 0.7 | 0.8        | 0.6 |
|                        |                | 2              | 0.9   | 1.2 | 1.1        | 1.3 |
|                        | 120<br>(4800)  | 1              | 1.0   | 1.2 | 0.9        | 1.7 |
|                        |                | 2              | 1.0   | 1.2 | 0.9        | 1.3 |
|                        | 100<br>(4000)  | 1              | 1.2   | 1.1 | 1.3        | 0.9 |
|                        |                | 2              | 1.2   | 0.9 | 1.2        | 1.7 |
|                        | 100<br>(4000)  | 1              | 0.9   | 1.0 | 1.1        | 1.2 |
|                        |                | 2              | 1.0   | 0.9 | 0.9        | 1.5 |
| Voor GAC sonder chloor | 100<br>(4000)  | 1              | 1.1   | 0.9 | 0.8        | 1.1 |
|                        |                | 2              | 1.0   | 1.0 | 1.0        | 1.1 |
|                        | 120<br>(4000)  | 1              | 1.1   | 1.2 | 1.2        | 2.0 |
|                        |                | 2              | 1.1   | 1.1 | 0.8        | 1.2 |
|                        | 100<br>(4000)  | 1              | 1.2   | 1.0 | 1.0        | 1.0 |
|                        |                | 2              | 1.0   | 0.8 | 1.2        | 1.4 |
|                        | 100<br>(40000) | 1              | 1.0   | 1.0 | 1.6        | 1.1 |
|                        |                | 2              | 1.1   | 0.9 | 1.4        | 1.4 |
|                        | 100<br>(4000)  | 1              | 1.6   | 1.2 | 1.0        | 0.9 |
|                        |                | 2              | 1.0   | 1.1 | 0.8        | 0.7 |
|                        | 100<br>(4000)  | 1              | 1.1   | 1.0 | GR         | GR  |
|                        |                | 2              | 0.9   | 1.0 | GR         | GR  |
|                        | 100<br>(4000)  | 1              | 1.1   | 0.7 | 1.2        | 1.1 |
|                        |                | 2              | 1.1   | 0.7 | 1.0        | 1.4 |
|                        | 100<br>(4000)  | 1              | 1.0   | 0.9 | 0.8        | 1.1 |
|                        |                | 2              | 0.8   | 0.9 | 1.4        | 0.9 |
|                        | 100<br>(4000)  | 1              | 1.1   | 0.7 | 1.3        | 1.3 |
|                        |                | 2              | 0.7   | 0.7 | 1.0        | 1.0 |
|                        | 100<br>(4000)  | 1              | 0.7   | NG  | 1.1        | NG  |
|                        |                | 2              | 0.7   | NG  | 0.9        | NG  |
|                        | 100<br>(4000)  | 1              | 0.9   | NG  | 1.7        | NG  |
|                        |                | 2              | 0.9   | NG  | 1.2        | NG  |
|                        | 100<br>(4000)  | 1              | 0.8   | 0.9 | 1.2        | NG  |
|                        |                | 2              | 0.8   | 1.0 | 1.0        | NG  |
|                        | 100<br>(4000)  | 1              | 0.9   | NG  | 1.4        | 0.9 |
|                        |                | 2              | 0.9   | NG  | 0.8        | 1.1 |

Tabel 3 Vervolg

| Watermonster         | Vol(1)<br>(X) | kolom | XAD-7  |     | MR   |     |
|----------------------|---------------|-------|--------|-----|------|-----|
|                      |               |       | TA100  |     | TA98 |     |
|                      |               |       | -S9    | +S9 | -S9  | +S9 |
| Voor GAC met chloor  | 100           | 1     | 2.3    | 1.6 | 2.5  | 1.5 |
|                      | (4000)        | 2     | 1.9    | 1.1 | 1.2  | 0.8 |
|                      | 100           | 1     | 0.9    | 1.9 | 1.9  | 2.0 |
|                      | (4000)        | 2     | 1.2    | GR  | 1.4  | GR  |
|                      | 100           | 1     | 6.5    | 3.1 | 5.8  | 3.3 |
|                      | (4000)        | 2     | 2.9    | 1.1 | 1.8  | 1.7 |
|                      | 100           | 1     | 5.0    | 1.9 | 4.0  | 1.9 |
|                      | (4000)        | 2     | 1.6    | 0.9 | 1.8  | 1.4 |
|                      | 100           | 1     | 5.3    | 2.1 | 2.9  | 1.5 |
|                      | (4000)        | 2     | 2.5    | 1.3 | 1.5  | 1.1 |
|                      | 100           | 1     | 3.2    | 2.2 | GR   | GR  |
|                      | (4000)        | 2     | 1.6    | 1.3 | GR   | GR  |
|                      | 100           | 1     | 3.7    | 1.6 | 2.3  | 1.4 |
|                      | (4000)        | 2     | 1.9    | 0.7 | 1.5  | 1.4 |
|                      | 100           | 1     | 4.0    | 1.7 | 2.9  | 1.9 |
|                      | (4000)        | 2     | 1.5    | 1.1 | 1.8  | 1.2 |
|                      | 100           | 1     | 4.0    | 1.5 | 5.8  | 2.7 |
|                      | (4000)        | 2     | 2.2    | 1.2 | 1.9  | 1.4 |
|                      | 100           | 1     | 2.5    | NG  | 2.0  | NG  |
|                      | (4000)        | 2     | 1.5    | NG  | 1.5  | NG  |
|                      | 100           | 1     | 2.4    | NG  | 2.2  | NG  |
|                      | (4000)        | 2     | 1.4    | NG  | 0.9  | NG  |
|                      | 100           | 1     | 1.8    | 1.7 | 1.6  | NG  |
|                      | (4000)        | 2     | 1.2    | 0.9 | 1.3  | NG  |
|                      | 100           | 1     | 0.6(T) | NG  | 3.4  | 2.2 |
|                      | (4000)        | 2     | 1.5    | NG  | 1.4  | 1.3 |
| Na GAC sonder chloor | 100           | 1     | 0.9    | 0.9 | 0.9  | 0.9 |
|                      | (4000)        | 2     | 0.8    | 0.9 | 0.6  | 0.9 |
|                      | 100           | 1     | 1.0    | 1.2 | 0.8  | 1.2 |
|                      | (4000)        | 2     | 1.2    | 1.2 | 0.8  | 1.2 |
|                      | 100           | 1     | 0.9    | 1.0 | 0.8  | 0.9 |
|                      | (4000)        | 2     | 0.8    | 1.0 | 0.9  | 1.1 |
|                      | 100           | 1     | 0.9    | 0.9 | 1.0  | 1.3 |
|                      | (4000)        | 2     | 0.8    | 0.9 | 1.3  | 1.4 |

Tabel 3 Vervolg

| Watermonsters                    | Vol(1)<br>(X) | XAD-7<br>kolom | MR    |     |      |     |
|----------------------------------|---------------|----------------|-------|-----|------|-----|
|                                  |               |                | TA100 |     | TA98 |     |
|                                  |               |                | -S9   | +S9 | -S9  | +S9 |
| Na GAC met chloor                | 100           | 1              | 1.1   | 1.2 | 1.0  | 0.9 |
|                                  | (4000)        | 2              | 1.1   | 1.1 | 1.0  | 1.1 |
|                                  | 100           | 1              | 1.0   | 1.2 | 1.7  | 1.8 |
|                                  | (4000)        | 2              | 1.0   | 1.1 | 0.6  | 1.4 |
|                                  | 100           | 1              | 2.4   | 1.1 | 1.3  | 1.3 |
|                                  | (4000)        | 2              | 1.1   | 1.0 | 1.1  | 0.9 |
|                                  | 100           | 1              | 2.3   | 1.3 | 1.5  | 1.2 |
|                                  | (4000)        | 2              | 1.3   | 0.8 | 1.2  | 1.7 |
|                                  | 100           | 1              | 2.0   | 1.4 | 1.1  | 1.0 |
|                                  | (4000)        | 2              | 1.6   | 1.1 | 1.1  | 0.9 |
|                                  | 100           | 1              | 1.4   | 1.2 | GR   | GR  |
|                                  | (4000)        | 2              | 1.1   | 0.9 | GR   | GR  |
|                                  | 100           | 1              | 2.4   | 1.0 | 0.8  | 1.1 |
|                                  | (4000)        | 2              | 1.3   | 1.1 | 1.3  | 1.3 |
|                                  | 100           | 1              | 0.8   | 0.8 | 1.0  | 0.9 |
|                                  | (4000)        | 2              | 0.9   | 0.9 | 1.0  | 0.6 |
|                                  | 100           | 1              | 1.6   | 0.5 | 1.3  | 1.0 |
|                                  | (4000)        | 2              | 0.7   | 0.5 | 1.0  | 0.9 |
|                                  | 100           | 1              | 1.4   | NG  | 1.3  | NG  |
|                                  | (4000)        | 2              | 0.9   | NG  | 1.2  | NG  |
| Voor GAC met chloor-<br>dioksied | 100           | 1              | 1.1   | NG  | 1.2  | NG  |
|                                  | (4000)        | 2              | 0.9   | NG  | 1.3  | NG  |
|                                  | 100           | 1              | 0.7   | 1.1 | 0.7  | NG  |
|                                  | (4000)        | 2              | 0.8   | 1.0 | 0.7  | NG  |
|                                  | 100           | 1              | 1.1   | GR  | 0.7  | ND  |
|                                  | (4000)        | 2              | 0.9   | GR  | 1.1  | ND  |
|                                  | 100           | 1              | 1.3   | 1.3 | GR   | 1.6 |
|                                  | (4000)        | 2              | 1.0   | 1.2 | GR   | 0.8 |
|                                  | 100           | 1              | 1.0   | 1.1 | GR   | GR  |
|                                  | (4000)        | 2              | 1.0   | 0.9 | GR   | GR  |
|                                  | 100           | 1              | 1.0   | 1.0 | 1.5  | 2.1 |
|                                  | (4000)        | 2              | 1.1   | 0.8 | 1.1  | 1.5 |
|                                  | 100           | 1              | 0.8   | 0.8 | 1.7  | 1.3 |
|                                  | (4000)        | 2              | 0.9   | 0.7 | 1.6  | 0.9 |
|                                  | 100           | 1              | 1.3   | 0.9 | 4.7  | 2.1 |
|                                  | (4000)        | 2              | 0.7   | 0.5 | 1.9  | 1.5 |
|                                  | 100           | 1              | 0.7   | NG  | 2.2  | NG  |
|                                  | (4000)        | 2              | 0.8   | NG  | 1.1  | NG  |

Tabel 3 Vervolg

| Watermonsters                     | Vol(1)<br>(X) | XAD-7<br>kolom | TA100 |     | MR<br>TA98 |     |
|-----------------------------------|---------------|----------------|-------|-----|------------|-----|
|                                   |               |                | -S9   | +S9 | -S9        | +S9 |
| Na GAC met chloordioksied         | 100<br>(4000) | 1              | 1.1   | 1.2 | GR         | 0.9 |
|                                   |               | 2              | 0.9   | 1.0 | GR         | 0.7 |
|                                   | 100<br>(4000) | 1              | 0.9   | 0.9 | GR         | GR  |
|                                   |               | 2              | 0.9   | 1.0 | GR         | GR  |
|                                   | 100<br>(4000) | 1              | 1.1   | 0.8 | 1.2        | 1.1 |
|                                   |               | 2              | 1.1   | 0.9 | 1.2        | 1.1 |
|                                   | 100<br>(4000) | 1              | 0.9   | 0.8 | 1.1        | 0.9 |
|                                   |               | 2              | 0.8   | 0.9 | 1.2        | 1.0 |
|                                   | 100<br>(4000) | 1              | 0.9   | 0.6 | 0.7        | 1.1 |
|                                   |               | 2              | 0.7   | 0.7 | 0.9        | 0.7 |
|                                   | 100<br>(4000) | 1              | 0.8   | NG  | 1.3        | NG  |
|                                   |               | 2              | 0.7   | NG  | 1.1        | NG  |
| Voor GAC met monochloor-<br>amien | 100<br>(4000) | 1              | 0.9   | NG  | 1.1        | NG  |
|                                   |               | 2              | 1.0   | NG  | 0.8        | NG  |
|                                   | 100<br>(4000) | 1              | 0.8   | 0.9 | 1.4        | NG  |
|                                   |               | 2              | 1.1   | 1.1 | 1.6        | NG  |
|                                   | 100<br>(4000) | 1              | 0.8   | GR  | 1.2        | NG  |
|                                   |               | 2              | 0.8   | GR  | 1.0        | NG  |
| Na GAC met monochloor-<br>amien   | 100<br>(4000) | 1              | 0.7   | NG  | 1.3        | NG  |
|                                   |               | 2              | 0.8   | NG  | 1.0        | NG  |
|                                   | 100<br>(4000) | 1              | 0.9   | 1.0 | 1.0        | NG  |
|                                   |               | 2              | 0.9   | NG  | 1.1        | NG  |
|                                   | 100<br>(4000) | 1              | 0.8   | NG  | 0.9        | NG  |
|                                   |               | 2              | 0.7   | NG  | 0.8        | NG  |

Tabel 4 TTHM-konsentrasies (Groep I)

| Watermonster            | Cl <sub>3</sub> | Cl <sub>4</sub> | Cl <sub>2</sub> | Br <sub>2</sub> | Br <sub>3</sub> | Totaal |
|-------------------------|-----------------|-----------------|-----------------|-----------------|-----------------|--------|
| -                       |                 |                 |                 |                 |                 |        |
| Kliprivier              | 1               | <1              | <1              | <1              | <1              | 1      |
|                         | 7               | <1              | <1              | <1              | <1              | 7      |
|                         | 2               | <1              | <1              | <1              | <1              | 2      |
| Vaaldam                 | 2               | <1              | <1              | <1              | <1              | 2      |
|                         | 4               | <1              | <1              | <1              | <1              | 4      |
|                         | 1               | <1              | <1              | <1              | <1              | 1      |
|                         | 1               | <1              | <1              | <1              | <1              | 1      |
|                         | 1               | <1              | <1              | <1              | <1              | 1      |
| Na karbonering          | 1               | <1              | <1              | <1              | <1              | 1      |
|                         | 4               | <1              | <1              | <1              | <1              | 4      |
|                         | 4               | <1              | 2               | 1               | <1              | 7      |
|                         | 4               | <1              | 2               | 1               | <1              | 7      |
| Na sandfiltrasie        | 2               | <1              | <1              | <1              | <1              | 2      |
|                         | 5               | <1              | <1              | <1              | <1              | 5      |
|                         | 4               | <1              | 2               | 1               | <1              | 7      |
|                         | 4               | <1              | 2               | 1               | <1              | 7      |
| Na breekpunt-chlorering | 8               | <1              | 7               | 6               | 1               | 22     |
|                         | 15              | <1              | 6               | 5               | 1               | 27     |
|                         | 10              | <1              | 9               | 7               | 1               | 27     |
|                         | 9               | <1              | 9               | 7               | 1               | 26     |
|                         | 5.3             | <1              | 5.3             | 3.3             | <1              | 13.9   |

Tabel 5 TTHM-kondentrasies (GroepII)

| Watermonster                           | Cl <sub>3</sub> | Cl <sub>4</sub> | Cl <sub>2</sub> | Br <sub>2</sub> | Br <sub>3</sub> | Totaal |
|----------------------------------------|-----------------|-----------------|-----------------|-----------------|-----------------|--------|
| Een uur na<br>breekpuntchlo-<br>rering | 10              | <1              | 12              | 9               | 1               | 32     |
|                                        | 12              | <1              | 12              | 10              | 1               | 35     |
|                                        | 13              | <1              | 12              | 9               | 1               | 35     |
|                                        | 12              | <1              | 13              | 11              | 2               | 38     |
|                                        | 12              | <1              | 13              | 11              | 2               | 38     |
|                                        | 15              | <1              | 10              | 8               | 1               | 34     |
|                                        | 16              | <1              | 16              | 11              | 2               | 45     |
|                                        | 12              | <1              | 14              | 11              | 2               | 39     |
|                                        | 12              | <1              | 13              | 12              | 2               | 39     |
| Voor chloor-<br>aminering              | 14              | <1              | 15              | 11              | 1               | 41     |
|                                        | 15              | <1              | 15              | 11              | 1               | 42     |
|                                        | 21              | <1              | 17              | 12              | 2               | 52     |
|                                        | 18              | <1              | 15              | 12              | 2               | 47     |
|                                        | 20              | <1              | 17              | 13              | 2               | 52     |
|                                        | 22              | <1              | 20              | 16              | 3               | 61     |
|                                        | 20              | <1              | 18              | 13              | 3               | 54     |
|                                        | 19              | <1              | 17              | 14              | 2               | 52     |
|                                        | 16              | <1              | 17              | 14              | 3               | 50     |
| Na chloorami-<br>nering                | 18              | <1              | 15              | 10              | 1               | 44     |
|                                        | 15              | <1              | 14              | 10              | 1               | 40     |
|                                        | 17              | <1              | 17              | 11              | 2               | 47     |
|                                        | 19              | <1              | 17              | 13              | 2               | 51     |
|                                        | 21              | <1              | 18              | 14              | 2               | 55     |
|                                        | 20              | <1              | 19              | 16              | 3               | 58     |
|                                        | 12              | <1              | 11              | 10              | 2               | 35     |
|                                        | 20              | <1              | 17              | 14              | 2               | 53     |
|                                        | 18              | <1              | 16              | 14              | 3               | 51     |
| Rustenburg                             | 19              | <1              | 18              | 12              | 1               | 50     |
|                                        | 18              | <1              | 17              | 12              | 2               | 49     |
|                                        | 21              | <1              | 18              | 13              | 2               | 54     |
|                                        | 22              | <1              | 20              | 17              | 3               | 62     |
|                                        | 18              | <1              | 17              | 14              | 3               | 52     |
|                                        | 28              | <1              | 23              | 17              | 4               | 72     |
|                                        | 18              | <1              | 17              | 14              | 3               | 52     |
|                                        | 17              | <1              | 16              | 14              | 3               | 50     |
|                                        | 18              | <1              | 17              | 14              | 3               | 52     |

Tabel 6 TTHM-konsentrasies (Groep III)

| Watermonster                     | Cl <sup>3</sup> | Cl <sup>4</sup> | Cl <sup>2</sup> | Br <sup>2</sup> | Br <sup>3</sup> | Totaal |
|----------------------------------|-----------------|-----------------|-----------------|-----------------|-----------------|--------|
| Barrage Rouwater                 | 1               | <1              | <1              | <1              | <1              | 1      |
|                                  | 2               | <1              | <1              | <1              | <1              | 2      |
|                                  | 1               | <1              | <1              | <1              | <1              | 1      |
| Voor GAC sonder chloor           | 1               | <1              | <1              | <1              | <1              | 1      |
|                                  | 1               | <1              | <1              | <1              | <1              | 1      |
|                                  | 1               | <1              | <1              | 1               | 2               | 4      |
|                                  | 1               | <1              | <1              | <1              | 2               | 3      |
|                                  | 2               | <1              | <1              | <1              | <1              | 2      |
|                                  | 2               | <1              | <1              | <1              | 1               | 3      |
|                                  | 2               | <1              | <1              | <1              | <1              | 2      |
|                                  | 1               | <1              | <1              | <1              | <1              | 1      |
|                                  | 2               | <1              | <1              | <1              | <1              | 2      |
|                                  | 2               | <1              | <1              | 1               | <1              | 3      |
|                                  | 2               | <1              | <1              | <1              | <1              | 2      |
| Voor GAC met chloor              | 18              | <1              | 23              | 26              | 8               | 75     |
|                                  | 17              | <1              | 18              | 16              | 4               | 55     |
|                                  | 11              | <1              | 18              | 26              | 12              | 67     |
|                                  | 13              | <1              | 14              | 13              | 4               | 44     |
|                                  | 15              | <1              | 14              | 11              | 3               | 32     |
|                                  | 9               | <1              | 10              | 9               | 3               | 31     |
|                                  | 12              | <1              | 16              | 20              | 11              | 59     |
|                                  | 17              | <1              | 20              | 16              | 4               | 57     |
|                                  | 16              | <1              | 17              | 14              | 3               | 50     |
|                                  | 25              | <1              | 17              | 10              | 2               | 54     |
|                                  | 25              | <1              | 18              | 12              | 2               | 57     |
| Na GAC sonder chloor             | 1               | <1              | <1              | <1              | <1              | 1      |
|                                  | 1               | <1              | <1              | <1              | <1              | 1      |
|                                  | 1               | <1              | <1              | <1              | <1              | 1      |
| Na GAC met chloor                | 2               | <1              | 4               | 12              | 20              | 38     |
|                                  | 2               | <1              | 3               | 13              | 23              | 41     |
|                                  | 2               | <1              | 4               | 16              | 25              | 47     |
|                                  | 3               | <1              | 4               | 13              | 25              | 45     |
|                                  | 3               | <1              | 2               | 6               | 11              | 22     |
|                                  | 2               | <1              | 1               | 3               | 7               | 13     |
|                                  | 2               | <1              | <1              | 2               | 2               | 6      |
|                                  | 2               | <1              | 2               | 5               | 10              | 19     |
|                                  | 3               | <1              | 2               | 3               | 4               | 12     |
|                                  | 3               | <1              | 3               | 12              | 21              | 39     |
|                                  | 3               | <1              | 3               | 11              | 18              | 35     |
| Voor GAC met chloor-<br>dioksied | 2               | <1              | <1              | <1              | <1              | 2      |
|                                  | 2               | <1              | <1              | <1              | <1              | 2      |
|                                  | 2               | <1              | <1              | 1               | 1               | 4      |
|                                  | 2               | <1              | <1              | <1              | <1              | 2      |
|                                  | 1               | <1              | <1              | <1              | <1              | 1      |
|                                  | 2               | <1              | <1              | <1              | <1              | 2      |

Tabel 6 Vervolg

| Watermonster     | Cl <sub>3</sub> | Cl <sub>4</sub> | Cl <sub>2</sub> | Br <sub>2</sub> | Br <sub>3</sub> | Totaal |
|------------------|-----------------|-----------------|-----------------|-----------------|-----------------|--------|
| Na GAC met       | 2               | <1              | <1              | <1              | <1              | 2      |
| cloordioksied    | 2               | <1              | <1              | <1              | <1              | 2      |
|                  | 2               | <1              | <1              | <1              | <1              | 2      |
|                  | 2               | <1              | <1              | <1              | <1              | 2      |
|                  | 1               | <1              | <1              | <1              | <1              | 1      |
|                  | 14              | <1              | <1              | <1              | <1              | 14     |
| Voor GAC met     | 2               | <1              | <1              | <1              | <1              | 2      |
| monochlooramien  | 2               | <1              | <1              | <1              | <1              | 2      |
| Na GAC met mono- | 1               | <1              | <1              | <1              | <1              | 1      |
| chlooramien      | 1               | <1              | <1              | <1              | <1              | 1      |

## **ADDENDUM C**

**(Chemiese analyses is slegs 'n voorbeeld van elk. Volledige data is beskikbaar).**

RAND WATER BOARD  
SPECIAL SAMPLE ANALYSIS

19/12/21

Sample received from: B. Layan

Date sample received: 19/12/21

Description of sample: 9/1235 K19 K1 private

| PARAMETER           | RESULT | PARAMETER        | RESULT |
|---------------------|--------|------------------|--------|
| TEMPERATURE         |        | Molybdenum Mo    |        |
| CONDUCTIVITY mS/M   | 108    | Boron B          | 0.38   |
| TURBIDITY NTU       | 4.7    | Mercury Hg ug/l  |        |
| pH                  | 7.79   | Arsenic As ug/l  |        |
| PHS                 | 3.01   | Selenium Se ug/l |        |
| SUSPENDED SOLIDS    |        | Active SiO2      | 5.9    |
| DISSOLVED SOLIDS    |        | Total SiO2       | 9.6    |
| COLOUR              |        | Ammonia as N     | 0.74   |
| Alkalinity as CaCO3 | 130    | Total Kjeldahl N |        |
| Hardness as CaCO3   | 330    | Nitrite as N     | 0.11   |
| Calcium (Ca)        | 83     | Nitrate as N     | 5.0    |
| Magnesium (Mg)      | 30     | Ortho P          | 0.71   |
| Sodium (Na)         | 75     | Total P          | 1.3    |
| Potassium (K)       | 14     | Sulphate         | 235    |
| Cadmium (Cd)        | 40.05  | Chloride         | 105    |
| Chromium (Cr)       | 40.05  | Fluoride         | 0.41   |
| Cobalt (Co)         | 40.10  | Cyanide          |        |
| Copper (Cu)         | 40.10  | Bromide          |        |
| Iron (Fe)           | 0.19   | MBAS             | 0.52   |
| Manganese (Mn)      | 0.15   | Dissolved Oxygen |        |
| Lead (Pb)           | 40.10  | Absorbed Oxygen  |        |
| Zinc (Zn)           | 40.10  | COD              | 30     |
| Nickel (Ni)         | 40.10  | DOC              | 7.2    |
| Aluminium (Al)      | 0.33   | Phenol ug/l      |        |
| Vanadium (V)        |        | Oil and Grease   |        |

RESULTS ARE IN mg/l WHERE APPLICABLE

**DISCLAIMER**

ALTHOUGH THE RAND WATER BOARD HAS USED EVERY ENDEAVOUR TO DO A CORRECT AND PROPER ANALYSIS AND MAKE AN ACCURATE AND CORRECT INTERPRETATION OF THE RESULTS THEREOF NEITHER THE BOARD NOR ANY OF ITS OFFICIALS SHALL BE LIABLE FOR ANY INACCURACY OR INCORRECTNESS OF THE ANALYSIS OR THE INTERPRETATION OF RESULTS.

RAND WATER BOARD  
SPECIAL SAMPLE ANALYSIS

11 / 6 / 91

Sample received from: 13. Low.....  
 Date sample received: 5/6/91.....  
 Description of sample: 91/217..... NK J. A. Karbonen

| PARAMETER           | RESULT | PARAMETER        | RESULT |
|---------------------|--------|------------------|--------|
| TEMPERATURE         |        | Molybdenum Mo    |        |
| CONDUCTIVITY mS/M   | 42     | Boron B          | < 0,10 |
| TURBIDITY NTU       | 2,8    | Mercury Hg ug/l  |        |
| pH                  | 7,73   | Arsenic As ug/l  |        |
| pHS                 | 8,47   | Selenium Se ug/l |        |
| SUSPENDED SOLIDS    |        | Active SiO2      | 4,3    |
| DISSOLVED SOLIDS    |        | Total SiO2       | 7,0    |
| COLOUR              |        | Ammonia as N     | 0,08   |
| Alkalinity as CaCO3 | 94     | Total Kjeldahl N |        |
| Hardness as CaCO3   | 125    | Nitrite as N     | < 0,10 |
| Calcium (Ca)        | 29     | Nitrate as N     | 0,72   |
| Magnesium (Mg)      | 13     | Ortho P          | 0,03   |
| Sodium (Na)         | 31     | Total P          | 1,6    |
| Potassium (K)       | 7,0    | Sulphate         | 60     |
| Cadmium (Cd)        | < 0,05 | Chloride         | 27     |
| Chromium (Cr)       | < 0,05 | Fluoride         | 0,38   |
| Cobalt (Co)         | < 0,10 | Cyanide          |        |
| Copper (Cu)         | < 0,10 | Bromide          |        |
| Iron (Fe)           | < 0,10 | MBAS             | < 0,30 |
| Manganese (Mn)      | < 0,10 | Dissolved Oxygen |        |
| Lead (Pb)           | < 0,10 | Absorbed Oxygen  |        |
| Zinc (Zn)           | < 0,10 | COD              | 32     |
| Nickel (Ni)         | < 0,10 | DOC              | 6,3    |
| Aluminium (Al)      | 0,27   | Phenol ug/l      |        |
| Vanadium (V)        |        | Oil and Grease   |        |

RESULTS ARE IN mg/l WHERE APPLICABLE

**DISCLAIMER**  
 ALTHOUGH THE RAND WATER BOARD HAS USED EVERY ENDEAVOUR TO DO A CORRECT AND PROPER ANALYSIS AND MAKE AN ACCURATE AND CORRECT INTERPRETATION OF THE RESULTS THEREOF NEITHER THE BOARD NOR ANY OF ITS OFFICIALS SHALL BE LIABLE FOR ANY INACCURACY OR INCORRECTNESS OF THE ANALYSIS OR THE INTERPRETATION OF RESULTS.

-11/-15/-91-

Description of sample: 7/2/19... FO... 1161... *F. Ne. outlast*

| PARAMETER           | RESULT | PARAMETER        | RESULT |
|---------------------|--------|------------------|--------|
| TEMPERATURE         |        | Molybdenum Mo    |        |
| CONDUCTIVITY mS/M   | 42     | Boron B          |        |
| TURBIDITY NTU       | 0.59   | Mercury Hg ug/l  |        |
| pH                  | 7.84   | Arsenic As ug/l  |        |
| PHS                 | 3.49   | Selenium Se ug/l |        |
| SUSPENDED SOLIDS    |        | Active SiO2      | 3.7    |
| DISSOLVED SOLIDS    |        | Total SiO2       | 70     |
| COLOUR              |        | Ammonia as N     | 0.08   |
| Alkalinity as CaCO3 | 91     | Total Kjeldahl N |        |
| Hardness as CaCO3   | 125    | Nitrite as N     | 40.10  |
| Calcium (Ca)        | 39     | Nitrate as N     | 0.75   |
| Magnesium (Mg)      | 13     | Ortho P          | 40.03  |
| Sodium (Na)         | 31     | Total P          | 0.98   |
| Potassium (K)       | 7.1    | Sulphate         | 51     |
| Cadmium (Cd)        | < 0.05 | Chloride         | 29     |
| Chromium (Cr)       | < 0.05 | Fluoride         | 0.28   |
| Cobalt (Co)         | < 0.10 | Cyanide          |        |
| Copper (Cu)         | < 0.10 | Bromide          |        |
| Iron (Fe)           | < 0.10 | MBAS             | 40.30  |
| Manganese (Mn)      | < 0.10 | Dissolved Oxygen |        |
| Lead (Pb)           | < 0.10 | Absorbed Oxygen  |        |
| Zinc (Zn)           | < 0.10 | COD              | 22     |
| Nickel (Ni)         | < 0.10 | DOC              | 5.6    |
| Aluminium (Al)      | 0.20   | Phenol ug/l      |        |
| Vanadium (V)        |        | Oil and Grease   |        |

RESULTS ARE IN mg/l WHERE APPLICABLE

## DISCLAIMER

ALTHOUGH THE RAND WATER BOARD HAS USED EVERY ENDEAVOUR TO DO A CORRECT AND PROPER ANALYSIS AND MAKE AN ACCURATE AND CORRECT INTERPRETATION OF THE RESULTS THEREOF NEITHER THE BOARD NOR ANY OF ITS OFFICIALS SHALL BE LIABLE FOR ANY INACCURACY OR INCORRECTNESS OF THE ANALYSIS OR THE INTERPRETATION OF RESULTS.

all

RAND WATER BOARD  
SPECIAL SAMPLE ANALYSIS

11/6/91

Sample received from: Blen...

Date sample received: 5/6/91

Description of sample: 91/214 A21 Ta chlor...

| PARAMETER           | RESULT | PARAMETER        | RESULT |
|---------------------|--------|------------------|--------|
| TEMPERATURE         |        | Molybdenum Mo    |        |
| CONDUCTIVITY mS/M   | 43     | Boron B          | < 0.10 |
| TURBIDITY NTU       | 2.4    | Mercury Hg ug/l  |        |
| pH                  | 7.74   | Arsenic As ug/l  |        |
| PHS                 | 3.45   | Selenium Se ug/l |        |
| SUSPENDED SOLIDS    |        | Active SiO2      | 3.8    |
| DISSOLVED SOLIDS    |        | Total SiO2       | 7.0    |
| COLOUR              |        | Ammonia as N     | 0.11   |
| Alkalinity as CaCO3 | 93     | Total Kjeldahl N |        |
| Hardness as CaCO3   | 130    | Nitrite as N     | < 0.10 |
| Calcium (Ca)        | 31     | Nitrate as N     | 0.74   |
| Magnesium (Mg)      | 13     | Ortho P          | 0.05   |
| Sodium (Na)         | 31     | Total P          | 0.90   |
| Potassium (K)       | 6.9    | Sulphate         | 59     |
| Cadmium (Cd)        | < 0.05 | Chloride         | 25     |
| Chromium (Cr)       | < 0.05 | Fluoride         | 0.29   |
| Cobalt (Co)         | < 0.10 | Cyanide          |        |
| Copper (Cu)         | < 0.10 | Bromide          |        |
| Iron (Fe)           | < 0.10 | MEAS             | < 0.30 |
| Manganese (Mn)      | < 0.10 | Dissolved Oxygen |        |
| Lead (Pb)           | < 0.10 | Absorbed Oxygen  |        |
| Zinc (Zn)           | < 0.10 | COD              | 17     |
| Nickel (Ni)         | < 0.10 | DOC              | 4.5    |
| Aluminium (Al)      | 0.19   | Phenol ug/l      |        |
| Vanadium (V)        |        | Oil and Grease   |        |

RESULTS ARE IN mg/l WHERE APPLICABLE

**DISCLAIMER**

ALTHOUGH THE RAND WATER BOARD HAS USED EVERY ENDEAVOUR TO DO A CORRECT AND PROPER ANALYSIS AND MAKE AN ACCURATE AND CORRECT INTERPRETATION OF THE RESULTS THEREOF NEITHER THE BOARD NOR ANY OF ITS OFFICIALS SHALL BE LIABLE FOR ANY INACCURACY OR INCORRECTNESS OF THE ANALYSIS OR THE INTERPRETATION OF RESULTS.

aul  
2

## SPECIAL SAMPLE ANALYSIS

99 / 93 / 99.

Sample received from: B. LawDate received: 21/03Len um na chlor. gDescription of sample: 92/129 DA 19

| PARAMETER           | RESULT | PARAMETER         | RESULT |
|---------------------|--------|-------------------|--------|
| TEMPERATURE deg C   |        | MOLYBDENUM mg/l   | 40.12  |
| CONDUCTIVITY mS/m   | 37     | BORON mg/l        | 40.13  |
| TURBIDITY NTU       | 0.31   | MERCURY mg/l      |        |
| PH                  | 8.33   | ARSENIC mg/l      |        |
| PHs                 | 3.30   | SELENIUM mg/l     |        |
| SUSPENDED SOLIDS    |        | ACTIVE SiO2 mg/l  | 3.2    |
| DISSOLVED SOLIDS    |        | TOTAL SiO2 mg/l   | 3.4    |
| CLOUR               | 5      | AMMONIA mg/l N    | 0.05   |
| ALKALINITY as CaCO3 | 98     | TOTAL KJELDAHL N  |        |
| HARDNESS as CaCO3   | 91     | NITRITE mg/l N    | 0.13   |
| CALCIUM mg/l        | 30     | NITRATE mg/l N    | 0.08   |
| MAGNESIUM mg/l      | 10     | ORTHO PHOSPHATE   | 40.03  |
| SODIUM mg/l         | 30     | TOTAL PHOSPHATE   |        |
| POTASSIUM mg/l      | 4.6    | SULPHATE mg/l     | 12     |
| CADMIUM mg/l        | < 0.05 | CHLORIDE mg/l     | 410    |
| CHROMIUM mg/l       | 40.05  | FLUORIDE mg/l     | 0.37   |
| COBALT mg/l         | 40.10  | CYANIDE mg/l      |        |
| COPPER mg/l         | 40.10  | BROMIDE mg/l      |        |
| IRON mg/l           | 0.15   | MEAS mg/l         | 40.30  |
| MANGANESE mg/l      | 40.10  | DISSOLVED O2 mg/l |        |
| LEAD mg/l           | 40.10  | ABSORBED O2 mg/l  |        |
| ZINC mg/l           | 40.10  | COD mg/l O2       | 410    |
| NICKEL mg/l         | 40.10  | DOC mg/l O2       | 5.4    |
| ALUMINIUM mg/l      | 0.17   | PHENOL ug/l       |        |
| VANADIUM mg/l       |        | OIL & GREASE mg/l |        |

ALTHOUGH THE RAND WATER BOARD HAS USED EVERY ENDEAVOUR TO DO A CORRECT AND PROPER ANALYSIS; MAKE AN ACCURATE AND CORRECT INTERPRETATION OF THE RESULTS THEREOF NEITHER THE BOARD NOR ANY OF ITS OFFICIALS SHALL BE LIABLE FOR ANY INACCURACY OR INCORRECTNESS OF THE ANALYSIS OR THE INTERPRETATION OF RESULTS.

## SPECIAL SAMPLE ANALYSIS

.24 / .02 / .99

Sample received from: B. Law (Roxer)Date received: 18/02/92Description of sample: 92/174 EKENHOF Voor Chloramine

| PARAMETER           | RESULT | PARAMETER         | RESULT |
|---------------------|--------|-------------------|--------|
| TEMPERATURE deg C   |        | MOLYBDENUM mg/l   |        |
| CONDUCTIVITY mS/m   | 25     | BORON mg/l        |        |
| TURBIDITY NTU       | 0.39   | MERCURY mg/l      |        |
| pH                  | 7.58   | ARSENIC mg/l      |        |
| pHs                 | 8.45   | SELENIUM mg/l     |        |
| SUSPENDED SOLIDS    |        | ACTIVE SiO2 mg/l  | 2.4    |
| DISSOLVED SOLIDS    |        | TOTAL SiO2 mg/l   | 4.1    |
| COLOUR              | 2.5    | AMMONIA mg/l N    | <0.10  |
| ALKALINITY as CaCO3 | 76     | TOTAL KJELDAHL N  | <1.0   |
| HARDNESS as CaCO3   | 66     | NITRITE mg/l N    | 0.15   |
| CALCIUM mg/l        | 14     | NITRATE mg/l N    | <0.10  |
| MAGNESIUM mg/l      | 7.5    | ORTHO PHOSPHATE   | <0.03  |
| SODIUM mg/l         | 19     | TOTAL PHOSPHATE   | <0.30  |
| POTASSIUM mg/l      | 4.5    | SULPHATE mg/l     | 25     |
| CADMIUM mg/l        |        | CHLORIDE mg/l     | <10    |
| CHROMIUM mg/l       |        | FLUORIDE mg/l     |        |
| COBALT mg/l         |        | CYANIDE mg/l      |        |
| COPPER mg/l         |        | BROMIDE mg/l      |        |
| IRON mg/l           | 0.05   | MBAS mg/l         | <0.30  |
| MANGANESE mg/l      |        | DISSOLVED O2 mg/l |        |
| LEAD mg/l           |        | ABSORBED O2 mg/l  |        |
| ZINC mg/l           |        | COD mg/l O2       | 16     |
| NICKEL mg/l         |        | DOC mg/l O2       | 4.6    |
| ALUMINIUM mg/l      | 0.11   | PHENOL ug/l       |        |
| VANADIUM mg/l       |        | OIL & GREASE mg/l |        |

ALTHOUGH THE RAND WATER BOARD HAS USED EVERY ENDEAVOUR TO DO A CORRECT AND PROPER ANALYSIS; MAKE AN ACCURATE AND CORRECT INTERPRETATION OF THE RESULTS THEREOF NEITHER THE BOARD NOR ANY OF ITS OFFICIALS SHALL BE LIABLE FOR ANY INACCURACY OR INCORRECTNESS OF THE ANALYSIS OR THE INTERPRETATION OF RESULTS.

## SPECIAL SAMPLE ANALYSIS

.19 / .93 / 92.

|                        |                               |
|------------------------|-------------------------------|
| Sample received from:  | 3. Law (Private)              |
| Date received:         | 17/03/92                      |
| Description of sample: | 92/355 Q3 T/a chloramphenicol |

| PARAMETER           | RESULT | PARAMETER         | RESULT |
|---------------------|--------|-------------------|--------|
| TEMPERATURE deg C   |        | MOLYBDENUM mg/l   |        |
| CONDUCTIVITY mS/m   | 25     | BORON mg/l        | <0.10  |
| TURBIDITY NTU       | 0.69   | MERCURY mg/l      |        |
| PH                  | 7.19   | ARSENIC mg/l      |        |
| PHs                 | 8.37   | SELENIUM mg/l     |        |
| SUSPENDED SOLIDS    |        | ACTIVE SiO2 mg/l  | 0.39   |
| DISSOLVED SOLIDS    |        | TOTAL SiO2 mg/l   | 3.6    |
| COLOUR              | 2.5    | AMMONIA mg/l N    | 0.29   |
| ALKALINITY as CaCO3 | 80     | TOTAL KJELDAHL N  |        |
| HARDNESS as CaCO3   | 74     | NITRITE mg/l N    | 0.18   |
| CALCIUM mg/l        | 18     | NITRATE mg/l N    | <0.10  |
| MAGNESIUM mg/l      | 7.1    | ORTHO PHOSPHATE   | <0.03  |
| SODIUM mg/l         | 18     | TOTAL PHOSPHATE   |        |
| POTASSIUM mg/l      | 4.1    | SULPHATE mg/l     | 15     |
| CADMIUM mg/l        | <0.05  | CHLORIDE mg/l     | <10    |
| CHROMIUM mg/l       | <0.05  | FLUORIDE mg/l     |        |
| COBALT mg/l         | <0.10  | CYANIDE mg/l      |        |
| COPPER mg/l         | <0.10  | BROMIDE mg/l      |        |
| IRON mg/l           | <0.05  | MEAS mg/l         |        |
| MANGANESE mg/l      | <0.10  | DISSOLVED O2 mg/l |        |
| LEAD mg/l           | <0.10  | ABSORBED O2 mg/l  |        |
| ZINC mg/l           | <0.10  | COD mg/l O2       | 12     |
| NICKEL mg/l         | <0.10  | DOC mg/l O2       | 3.1    |
| ALUMINIUM mg/l      | 0.10   | PHENOL ug/l       |        |
| VANADIUM mg/l       |        | OIL & GREASE mg/l |        |

ALTHOUGH THE RAND WATER BOARD HAS USED EVERY ENDEAVOUR TO DO A CORRECT AND PROPER ANALYSIS; MAKE AN ACCURATE AND CORRECT INTERPRETATION OF THE RESULTS THEREOF NEITHER THE BOARD NOR ANY OF ITS OFFICIALS SHALL BE LIABLE FOR ANY INACCURACY OR INCORRECTNESS OF THE ANALYSIS OR THE INTERPRETATION OF RESULTS.

## SPECIAL SAMPLE ANALYSIS

.14 / .91 / .92

Sample received from: B. Louw

Date received: 06/01/92

Description of sample: 30 / Rust Rustenburg

| PARAMETER           | RESULT | PARAMETER         | RESULT |
|---------------------|--------|-------------------|--------|
| TEMPERATURE deg C   | —      | MOLYBDENUM mg/l   | 20,93  |
| CONDUCTIVITY mS/m   | 26     | BORON mg/l        | 20,10  |
| TURBIDITY NTU       | 0,65   | MERCURY mg/l      | —      |
| PH                  | 8,2    | ARSENIC mg/l      | —      |
| PHs                 | 8,4    | SELENIUM mg/l     | —      |
| SUSPENDED SOLIDS    | —      | ACTIVE SiO2 mg/l  | 2,8    |
| DISSOLVED SOLIDS    | —      | TOTAL SiO2 mg/l   | 4,1    |
| COLOUR              | 2,5    | AMMONIA mg/l N    | 0,15   |
| ALKALINITY as CaCO3 | 80     | TOTAL KJELDAHL N  | —      |
| HARDNESS as CaCO3   | 73     | NITRITE mg/l N    | 20,10  |
| CALCIUM mg/l        | 18     | NITRATE mg/l N    | 0,31   |
| MAGNESIUM mg/l      | 6,8    | ORTHO PHOSPHATE   | 20,03  |
| SODIUM mg/l         | 17     | TOTAL PHOSPHATE   | —      |
| POTASSIUM mg/l      | 3,8    | SULPHATE mg/l     | 19     |
| CADMIUM mg/l        | 20,05  | CHLORIDE mg/l     | 13     |
| CHROMIUM mg/l       | 20,05  | FLUORIDE mg/l     | —      |
| COBALT mg/l         | 20,10  | CYANIDE mg/l      | —      |
| COPPER mg/l         | 20,10  | BROMIDE mg/l      | —      |
| IRON mg/l           | 20,05  | MEAS mg/l         | —      |
| MANGANESE mg/l      | 20,30  | DISSOLVED O2 mg/l | —      |
| LEAD mg/l           | 20,30  | ABSORBED O2 mg/l  | —      |
| ZINC mg/l           | 20,10  | COD mg/l O2       | 25     |
| NICKEL mg/l         | 20,10  | DOC mg/l O2       | 3,0    |
| ALUMINIUM mg/l      | 0,17   | PHENOL ug/l       | —      |
| VANADIUM mg/l       | 20,10  | OIL & GREASE mg/l | —      |

ALTHOUGH THE RAND WATER BOARD HAS USED EVERY ENDEAVOUR TO DO A CORRECT AND PROPER ANALYSIS; MAKE AN ACCURATE AND CORRECT INTERPRETATION OF THE RESULTS THEREOF NEITHER THE BOARD NOR ANY OF ITS OFFICIALS SHALL BE LIABLE FOR ANY INACCURACY OR INCORRECTNESS OF THE ANALYSIS OR THE INTERPRETATION OF RESULTS.

## SPECIAL SAMPLE ANALYSIS

11. / 05 / 92.

Sample received from: B. Law (Project)Date received: 05/05/92.Description of sample: 92/391 No1 Barrage Runwater

| PARAMETER           | RESULT | PARAMETER         | RESULT |
|---------------------|--------|-------------------|--------|
| TEMPERATURE deg C   |        | MOLYBDENUM mg/l   | 40.10  |
| CONDUCTIVITY mS/m   | 65     | BORON mg/l        | 40.10  |
| TURBIDITY NTU       | 12     | MERCURY mg/l      |        |
| PH                  | 7.94   | ARSENIC mg/l      |        |
| PHs                 | 8.10   | SELENIUM mg/l     |        |
| SUSPENDED SOLIDS    |        | ACTIVE SiO2 mg/l  | 1.5    |
| DISSOLVED SOLIDS    |        | TOTAL SiO2 mg/l   | 2.1    |
| COLOUR              | 70     | AMMONIA mg/l N    | 0.14   |
| ALKALINITY as CaCO3 | 110    | TOTAL KJELDAHL N  | 4.0    |
| HARDNESS as CaCO3   | 180    | NITRITE mg/l N    | 40.10  |
| CALCIUM mg/l        | 45     | NITRATE mg/l N    | 0.76   |
| MAGNESIUM mg/l      | 16     | ORTHO PHOSPHATE   | 0.16   |
| SODIUM mg/l         | 47     | TOTAL PHOSPHATE   | 40.30  |
| POTASSIUM mg/l      | 11     | SULPHATE mg/l     | 100    |
| CADMIUM mg/l        | < 0.05 | CHLORIDE mg/l     | 77     |
| CHROMIUM mg/l       | < 0.05 | FLUORIDE mg/l     | 0.52   |
| COBALT mg/l         | < 0.10 | CYANIDE mg/l      |        |
| COPPER mg/l         | < 0.10 | BROMIDE mg/l      |        |
| IRON mg/l           | 0.16   | MBAS mg/l         | 40.30  |
| MANGANESE mg/l      | 0.04   | DISSOLVED O2 mg/l |        |
| LEAD mg/l           | < 0.10 | ABSORBED O2 mg/l  |        |
| ZINC mg/l           | < 0.10 | COD mg/l O2       | 29     |
| NICKEL mg/l         | < 0.10 | DOC mg/l O2       | 7.0    |
| ALUMINIUM mg/l      | 0.28   | PHENOL ug/l       |        |
| VANADIUM mg/l       | 40.10  | OIL & GREASE mg/l |        |

ALTHOUGH THE RAND WATER BOARD HAS USED EVERY ENDEAVOUR TO DO A CORRECT AND PROPER ANALYSIS; MAKE AN ACCURATE AND CORRECT INTERPRETATION OF THE RESULTS THEREOF NEITHER THE BOARD NOR ANY OF ITS OFFICIALS SHALL BE LIABLE FOR ANY INACCURACY OR INCORRECTNESS OF THE ANALYSIS OR THE INTERPRETATION OF RESULTS.

## SPECIAL SAMPLE ANALYSIS

11. / 05 / 92.

Sample received from: 3 LowDate received: 05 / 05 / 92Description of sample: 92/392 No 2 Voor GAC

| PARAMETER           | RESULT | PARAMETER         | RESULT |
|---------------------|--------|-------------------|--------|
| TEMPERATURE deg C   |        | MOLYBDENUM mg/l   | 0.10   |
| CONDUCTIVITY mS/m   | 68     | BORON mg/l        | 0.10   |
| TURBIDITY NTU       | 0.54   | MERCURY mg/l      |        |
| PH                  | 8.19   | ARSENIC mg/l      |        |
| PHs                 | 7.76   | SELENIUM mg/l     |        |
| SUSPENDED SOLIDS    |        | ACTIVE SiO2 mg/l  | 1.0    |
| DISSOLVED SOLIDS    |        | TOTAL SiO2 mg/l   | 1.0    |
| COLOUR              | 5      | AMMONIA mg/l N    | 0.14   |
| ALKALINITY as CaCO3 | 105    | TOTAL KJELDAHL N  | 0.10   |
| HARDNESS as CaCO3   | 200    | NITRITE mg/l N    | 0.10   |
| CALCIUM mg/l        | 53     | NITRATE mg/l N    | 0.73   |
| MAGNESIUM mg/l      | 16     | ORTHO PHOSPHATE   | 0.22   |
| SODIUM mg/l         | 48     | TOTAL PHOSPHATE   | 0.30   |
| POTASSIUM mg/l      | 11     | SULPHATE mg/l     | 120    |
| CADMIUM mg/l        | < 0.05 | CHLORIDE mg/l     | 76     |
| CHROMIUM mg/l       | < 0.05 | FLUORIDE mg/l     | 0.42   |
| COBALT mg/l         | < 0.10 | CYANIDE mg/l      |        |
| COPPER mg/l         | < 0.10 | BROMIDE mg/l      |        |
| IRON mg/l           | < 0.05 | MEAS mg/l         | 0.30   |
| MANGANESE mg/l      | < 0.10 | DISSOLVED O2 mg/l |        |
| LEAD mg/l           | < 0.10 | ABSORBED O2 mg/l  |        |
| ZINC mg/l           | < 0.10 | COD mg/l O2       | 23     |
| NICKEL mg/l         | < 0.10 | DOC mg/l O2       | 4.3    |
| ALUMINIUM mg/l      | 0.91   | PHENOL ug/l       |        |
| VANADIUM mg/l       | < 0.10 | OIL & GREASE mg/l |        |

ALTHOUGH THE RAND WATER BOARD HAS USED EVERY ENDEAVOUR TO DO A CORRECT AND PROPER ANALYSIS; MAKE AN ACCURATE AND CORRECT INTERPRETATION OF THE RESULTS THEREOF NEITHER THE BOARD NOR ANY OF ITS OFFICIALS SHALL BE LIABLE FOR ANY INACCURACY OR INCORRECTNESS OF THE ANALYSIS OR THE INTERPRETATION OF RESULTS.

## SPECIAL SAMPLE ANALYSIS

11. / .99 / 92.

Sample received from: B. LawDate received: 05/05/92Description of sample: 92/323 No4 T/a GAC

| PARAMETER           | RESULT | PARAMETER         | RESULT |
|---------------------|--------|-------------------|--------|
| TEMPERATURE deg C   |        | MOLYBDENUM mg/l   |        |
| CONDUCTIVITY mS/m   | 68     | BORON mg/l        |        |
| TURBIDITY NTU       | 0.21   | MERCURY mg/l      |        |
| PH                  | 8.07   | ARSENIC mg/l      |        |
| PHs                 | 7.74   | SELENIUM mg/l     |        |
| SUSPENDED SOLIDS    |        | ACTIVE SiO2 mg/l  | 1.0    |
| DISSOLVED SOLIDS    |        | TOTAL SiO2 mg/l   | 1.0    |
| CLOUR               | 25     | AMMONIA mg/l N    | 0.09   |
| ALKALINITY as CaCO3 | 110    | TOTAL KJELDAHL N  | 41.0   |
| HARDNESS as CaCO3   | 210    | NITRITE mg/l N    | 40.10  |
| CALCIUM mg/l        | 55     | NITRATE mg/l N    | 0.72   |
| MAGNESIUM mg/l      | 17     | ORTHO PHOSPHATE   | 0.23   |
| SODIUM mg/l         | 49     | TOTAL PHOSPHATE   | 40.30  |
| POTASSIUM mg/l      | 11     | SULPHATE mg/l     | 130    |
| CADMIUM mg/l        | < 0.05 | CHLORIDE mg/l     | 72     |
| CHROMIUM mg/l       | < 0.05 | FLUORIDE mg/l     | 0.44   |
| COBALT mg/l         | < 0.10 | CYANIDE mg/l      |        |
| COPPER mg/l         | < 0.10 | BROMIDE mg/l      |        |
| IRON mg/l           | < 0.05 | MEAS mg/l         | 40.30  |
| MANGANESE mg/l      | < 0.10 | DISSOLVED O2 mg/l |        |
| LEAD mg/l           | < 0.10 | ABSORBED O2 mg/l  |        |
| ZINC mg/l           | < 0.10 | COD mg/l O2       | 15     |
| NICKEL mg/l         | < 0.10 | DOC mg/l O2       | 2.9    |
| ALUMINIUM mg/l      | 0.27   | PHENOL ug/l       |        |
| VANADIUM mg/l       |        | OIL & GREASE mg/l |        |

ALTHOUGH THE RAND WATER BOARD HAS USED EVERY ENDEAVOUR TO DO A CORRECT AND PROPER ANALYSIS; MAKE AN ACCURATE AND CORRECT INTERPRETATION OF THE RESULTS THEREOF NEITHER THE BOARD NOR ANY OF ITS OFFICIALS SHALL BE LIABLE FOR ANY INACCURACY OR INCORRECTNESS OF THE ANALYSIS OR THE INTERPRETATION OF RESULTS.